

Communauté française de Belgique

FACULTE UNIVERSITAIRE DES SCIENCES AGRONOMIQUES DE GEMBLoux

**Etude de la biodiversité de la microflore des eaux de lavage des bananes en
station de conditionnement et relation avec la manifestation de la
pourriture de couronne au Cameroun**

Travail de fin d'études

Année académique **2006-2007**

Présenté par : **Ewané Cécile Annie**

Promoteurs : **Prof. M. H. Jijakli** et **Dr. L. de Lapeyre de Bellaire**

En vue de l'obtention d'un Diplôme d'Etude Approfondie en Sciences Agronomiques et
Ingénierie Biologique

© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de la Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. Le présent document n'engage que son auteur.

*Je dédie ce travail à mes regrettés parents.
Vous avez toujours voulu le meilleur pour moi.
Merci pour tout, vous me manquez tellement . . .*

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à remercier toutes les personnes sans lesquelles son élaboration n'aurait été possible.

Je tiens tout d'abord à remercier mes deux promoteurs: le Prof. Haïssam Jijakli et le Dr. Luc de Lapeyre de Bellaire, de m'avoir accueillie dans leur équipe respective, ainsi que pour leur aide, leur disponibilité et leur encadrement très formateur tout au long de la réalisation de ce travail.

J'exprime ma gratitude envers l'ensemble des membres du jury, Messieurs Roger Paul, Guy Mergeai, Jean-Pierre Baudouin et Jean-Pierre Busogoro pour avoir accepté d'être membres de mon jury et je tiens à leur exprimer ma reconnaissance pour l'attention qu'ils ont portée à ce travail.

Je remercie sincèrement la direction du CARBAP particulièrement le Dr. Kodjo Tomekpe qui m'a accueillie au sein de son centre de recherche et veillé au bon déroulement de mon stage.

Je remercie également la FUSAGx, le CIRAD et le CARBAP pour leur participation au financement de mon voyage à Gembloux.

Un grand merci à Luc pour la confiance témoignée et la latitude accordée depuis mes tous premiers pas à l'initiation à la recherche dans le domaine de la banane. Grâce à ta gentillesse, ta disponibilité, ton support, tes nombreuses recommandations et surtout ta rigueur dans le travail, cette expérience s'est révélée très enrichissante du point de vue scientifique bien entendu, mais aussi humain.

Un gros merci à Ludivine dont la gentillesse n'a d'égal que la grandeur de son cœur. Tu as régulièrement suivi mon travail, m'as communiqué ton énergie sans borne, ton enthousiasme contagieux quand j'en manquais, et partagé mes moments de stress. Je te remercie pour ton exceptionnelle patience à m'aider dans mes analyses, ces heures consacrées à la lecture de mon document malgré tes occupations et à me transmettre une partie de tes connaissances.

J'adresse mes sincères remerciements à la direction de la PHP particulièrement M. Pierre Kameni et les chefs de stations qui m'ont fourni les échantillons et les informations sur les sites d'échantillonnage.

Un merci tout particulier à l'équipe du CARBAP qui a contribué à ce travail. Merci à Mado pour sa patience à nettoyer ces interminables tâches de latex ; aux techniciens et observateurs du laboratoire de phytopathologie : Oscar, Robert, Floribert, Joseph, Sakyo, clément, Adolph, Lévi et Thaddée. Je remercie également tous les chauffeurs pour leur implication sur le terrain, particulièrement Thomas pour sa volonté.

Toute ma gratitude va aussi de l'équipe du Laboratoire de phytopathologie de Gembloux : Paulette et Gladys pour leur aide si précieuse lors des démarches administratives ; Eliane, Frédéric, Angelo et Silvie pour leur bonne humeur ; Nicolas, Coralie et Mohammed, Thibaut pour le temps consacré à partager avec moi leurs connaissances.

Merci aussi à mes amis de Njombé Joe, Alex, Gaby, Arnaud, Gérard, Emmanuel, Léopold, Franklin pour leurs encouragements soutenus et les moments exceptionnels passés en leur compagnie. Vous étiez bien présents à mes côtés à Gembloux malgré la distance...

Je remercie aussi les autres stagiaires de Gembloux Marie-Jeanne, Adil, Emmanuel, Olivier, Marie, Vincent, Lyna, Augustin, Clervéus, Euloge, Abdoul, Gonné, Claire, Sosthène, Bosco, Imane, Amin ... pour leur sympathie, les discussions, ces longues heures passées au laboratoire, les rires et les bons moments passés ensemble.

Jamais je n'exprimerai assez de reconnaissance à ma famille pour leur soutien, leur encouragement, leur sensibilité et leur aide à tous les niveaux qui ont nettement dépassé toutes mes espérances. Merci à Yanis et à Guy Hervé pour le soutien, la patience et les sacrifices consentis.

J'exprime toute ma gratitude aux personnes qui ont été de tous les instants présentes et qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.

Résumé

L'analyse microbiologique de l'eau des bacs de dépaquetage et de lavage des bananes en station d'emballage a été effectuée pendant 9 semaines sur deux stations différentes au Cameroun. Il existe une différence quantitative et qualitative de la composition de la microflore des eaux des bacs de lavage des bananes entre les deux stations et entre les deux types d'eau de lavage. La concentration en spores est plus élevée à Dia-dia qu'à Tiko. De plus les concentrations en spores sont supérieures à Dia-dia dans les eaux de dépaquetage par rapport aux eaux de lavage. Cette différence de concentration en spores proviendrait du mode de traitement des eaux de ces stations. Suite à l'identification morphologique et moléculaire, les espèces fréquemment isolées des eaux des bacs de lavage des bananes au Cameroun sont *Penicillium* spp., *Verticillium* sp., *Céphalosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium monoliforme*, *Fusarium* sp. *Trichoderma* sp., *Colletotrichum* sp.

Le pouvoir pathogène des eaux de dépaquetage a été évalué en présence de témoins. L'apparition de nécroses sur les couronnes inoculées avec de l'eau stérile confirme l'existence en leur sein d'infections préétablies. Le pouvoir pathogène des eaux de dépaquetage est identique quelque soit la région et est très faible par rapport à celui du témoin *C. musae*. Ce faible pouvoir pathogène pourrait s'expliquer par la diversité de la microflore et l'existence des relations antagonistes au sein du complexe parasitaire.

Le pouvoir pathogène des espèces le plus fréquemment isolées des eaux des bacs de dépaquetage et de lavage des bananes a été évalué en présence d'un témoin *C. musae*. Le pouvoir pathogène de *C. musae* est de loin supérieur à celui des autres pathogènes.

Aucune corrélation n'a été établie entre les variations de la nature du complexe parasitaire et du pouvoir pathogène des eaux des bacs de lavage entre les deux stations d'étude et les deux types d'eaux de lavage au cours du temps.

Abstract

Microbiological analysis of bananas wash-tank water was carried out during 9 weeks in two different packing stations in Cameroun. There is a quantitative and qualitative difference in the microflora composition of bananas wash water between the two stations and the two types of water. Spores concentration is higher in Dia-dia than Tiko. Moreover spores concentration is higher in dehanding-water compared to washing-water in Dia-dia. This two stations difference in spore concentration would come from water treatment. Following the morphological and molecular identification, *Penicillium* spp., *Verticillium* sp., *Céphalosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium monoliforme*, *Fusarium* sp. *Trichoderma* sp., *Colletotrichum* sp. are frequently isolated from bananas wash water in Cameroun.

Pathogenic capacity of dehanding-water was evaluated in presence of blank. Appearance of necrosis on the crowns inoculated with sterile water confirms preestablished infections existence. Pathogenic capacity of dehanding-water is identical in both area and is very weak compared to that of the blank *C. musae*. This weak pathogenic capacity could be explained by microflora diversity and existence of antagonistic relations within the parasitic complex.

Pathogenic capacity of the species most frequently isolated from bananas wash water was evaluated in the presence of *C. musae* as blank. Pathogenic capacity of *C. musae* is by far higher than that of other pathogens.

No correlation was established between variations of parasitic complex nature and pathogenic capacity of bananas wash-tank water between the two packing stations and the two types of water during the study time.

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
ADNr : ADN ribosomique
ARN : Acide ribonucléique
BM : Biologie moléculaire
BLASTn: Basic Local Alignement Search Tool nucléotides
CARBAP : Centre Africain de Recherche sur Bananiers et Plantains
CDC: Cameroun Development Corporation
°C : Degré Celsius
CIRAD : Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
cm : Centimètre
CM : Capacité à Mûrir
CO₂ : Dioxyde de carbone
Co-CMR-65 : Souche 65 de *Colletotrichum musae* isolée du Cameroun
DJ : Degré Jour
DVV : Durée de Vie Verte des fruits
ED: Eau de dépaillage
EL: Eau de lavage
FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations
FUSAGx: Faculté universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux
g : Gramme
Gy : Gray
IFC : Intervalle Fleur-Coupe (floraison-récolte)
ITS : Espaceurs internes transcrits
kg : Kilogramme
l : Litre
1-MCP : 1-méthylcyclopropène
min : Minute
ml : Millilitre
mm : Millimètre
mm² : Millimètre carré
NCBI : National Center for Biotechnology Information
OCB : Office Camerounais de la Banane
O₂ : Oxygène
Pb : Paire de base
PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne
PDA : Potato Dextrose Agar
PHP : Société des Plantations du Haut-Penja
s : seconde
SNI : Surface de Nécrose Interne
µl : Microlitre
% : Pourcentage

INTRODUCTION

La banane est cultivée dans plus de 120 pays et occupe le deuxième rang de la production mondiale de fruits, derrière l'orange et devant le raisin. La banane dessert exportée appartient exclusivement au sous groupe Cavendish. Elle a une production de 72.6 millions de tonnes par an et près de 13 millions de tonnes ont été exportées en 2004 (FAOSTAT, 2005). La banane dessert apporte une contribution capitale aux économies de nombreux pays en développement de l'Amérique latine, des Caraïbes, de l'Asie de l'Est et de l'Afrique.

Au Cameroun, la banane a une valeur agronomique et économique indéniable puisqu'elle y est devenue le premier produit d'exportation d'origine agricole. Grâce au succès enregistré ces dernières années dans la restructuration de la filière banane au Cameroun, le volume de vente des bananes n'a cessé d'augmenter. L'augmentation de l'importance du secteur bananier dans ce pays peut se traduire par quelques chiffres : en 1988, le volume d'exportation était de 38.000 tonnes et il a dépassé les 300.000 tonnes en 2003 (www.fao.org, 2006). Ce secteur agricole occupe aujourd'hui une place prépondérante dans l'économie du pays et constitue la base du développement grâce à sa contribution à l'emploi (environ 20.000 emplois directs et indirects), aux recettes d'exportation (83 milliards F CFA) et au montant versé à l'Etat (300 millions F CFA) par les entreprises agro-industrielles (Temple & Owona, 1999).

La banane camerounaise exportée vers l'Europe présente des problèmes de qualité causés principalement par des accidents de maturation, des défauts de présentation et le développement de maladies de conservation durant leur transport. Ceci entraîne des pertes dans les mûrisseries des pays importateurs et contribue à la dépréciation de la qualité de la banane camerounaise. Cette mauvaise qualité ne lui permet pas de rivaliser avec les bananes des grandes multinationales américaines et constitue un frein aux exportations. Au Cameroun, les principaux défauts de qualité des bananes destinées à l'exportation sont liés au développement de la pourriture de couronne.

La pourriture de la couronne est une pourriture molle, brune ou noire résultant du développement de plusieurs champignons, auxquels s'ajoutent parfois d'autres microorganismes tels que des bactéries. Elle est invisible au moment de la mise en carton ; c'est après le transport maritime que les premiers symptômes sont observés et évoluent rapidement au cours du mûrissement. La pourriture est d'abord superficielle, puis progresse dans les tissus et elle peut dans certains cas envahir les pédoncules et ultérieurement les fruits. Elle peut être à l'origine du mûrissement précoce des fruits au cours du transit. Les pourritures de couronne affectent la valeur commerciale des fruits, notamment lors des évaluations réalisées au port d'arrivée ou en mûrisserie. Leur effet évolue au cours du mûrissement et de la mise en marché. Pour une origine de banane donnée, la récurrence de la pourriture de couronne dans les mûrisseries des pays importateurs peut entraîner l'exclusion du marché.

Les champignons pénètrent directement dans les tissus par les voies (blessures) ouvertes lors de la découpe des mains en bouquets. La colonisation des couronnes qui vont alors entamer leur dégénérescence ne nécessite pas une grande spécialisation parasitaire. Il s'agit d'une infection complexe qui résulte de l'activité de plusieurs pathogènes (Lukezic *et al.*, 1967).

La méthode de lutte utilisée actuellement est la lutte chimique par l'emploi systématique des fongicides dont l'utilisation pose de gros problèmes : leur efficacité varie selon les périodes de l'année et les zones de production ; l'apparition fréquente de souches résistantes aux fongicides ne permet pas un contrôle total de la maladie ; le retraitement des bouillies fongicides qui sont rejetées autour des stations de conditionnement après emballage est probablement à l'origine de dommages sur l'environnement. L'utilisation des fongicides constitue un risque pour la santé des travailleurs ; il en est de même pour la santé du consommateur car la présence de résidus a été détectée dans la peau des fruits (ce sont les

seuls résidus détectés) et pas dans la pulpe qui est consommée. Les recherches axées vers les méthodes de lutte alternatives à la lutte chimique sont d'un grand intérêt ; c'est ainsi que l'épistillage sur régime, l'engainage précoce ont été adoptés en plantations industrielles.

Les travaux antérieurs effectués aux Antilles sur la bio-écologie du *Colletotrichum musae*, ont permis de contribuer au développement de méthodes de lutte alternatives à la lutte chimique. Ainsi, ces méthodes de lutte reposant principalement sur la qualité des soins aux régimes (épistillage au champ, gainage précoce,...) ; sur une optimisation de la gestion des dates de récolte (récolte à âge physiologique constant) ; et sur la réduction des meurtrissures au cours des opérations de récolte et de conditionnement ; ont permis de contrôler efficacement l'anthracnose de blessure des fruits (chancre). Toutefois, ces méthodes ne permettent pas de limiter le développement des pourritures de couronne à un niveau acceptable. A l'heure actuelle, peu de données sont disponibles concernant l'épidémiologie de cette maladie et l'impact des facteurs environnementaux sur son développement dans les conditions du Cameroun.

CHAPITRE 1 : REVUE DE LA LITTÉRATURE

I. Le bananier

I.1. Origine et taxonomie

Le bananier est originaire d'Asie du Sud-est ; c'est une plante monocotylédone, de l'ordre des scitaminales et de la famille des *Musaceae*. Cette famille comprend deux genres : *Musa* et *Ensete*. Le bananier sauvage appartient à la section *Eumusa* et possède un génome diploïde ($2n=22$). Deux espèces sauvages, *Musa acuminata* colla (AAW) et *Musa balbisiana* colla (BBW) sont à l'origine de la grande majorité des espèces cultivées qui sont triploïdes.

Les bananiers se différencient entre eux par la qualité de leurs fruits. Les variétés produisant des bananes plutôt riches en sucres sont qualifiées de « dessert » et celle plutôt riche en amidon (plantain) sont dites « à cuire » (Champion, 1963). Les bananes principalement exportées sont les bananes dessert du sous groupe des Cavendish au sein du génome AAA.

I.2. Aspects botaniques

Le bananier est une plante monocotylédone herbacée et pérenne qui possède un rhizome souterrain (Figure 1). La pseudo tige aérienne est constituée par la réunion des gaines foliaires et atteint 8m de haut chez les variétés cultivées mais une hauteur de 15m chez certaines espèces sauvages (Champion, 1963).

Le système racinaire est cordiforme, fasciculé et orné de fins chevelus racinaires. La feuille de bananier adulte est constituée d'une nervure centrale et du limbe. Le bananier comporte en permanence une quinzaine de feuille qui apparaissent en hélice. Toutefois le nombre de feuilles varie selon le cultivar et les conditions environnementales (Jones, 2000).

Le fruit de nombreuses variétés triploïdes de bananes est asperme et provient du développement parthénocarpique de l'ovaire de fleurs femelle (unisexuées) ; s'il est issu d'une fécondation, il portera des graines, espèce séminifère et pas commercialisable. La multiplication du bananier se réalise essentiellement par voie végétative à partir du développement d'un ou de plusieurs bourgeons latéraux encore appelés rejets. Il s'écoule 15 mois de la mise en terre du rejet à la récolte du fruit.

Dans la vie du bananier, il y a donc une phase végétative durant la quelle il produit des feuilles puis, une phase florale durant laquelle il produit des pièces florales (bractées et mains de fleurs femelles ou mâles sont transformées). Le bananier est en phase florale bien avant la sortie de l'inflorescence. Durant la montée de l'inflorescence, il émet en général une feuille bractéale, feuille de transition entre les vraies feuilles et les premières bractées (Tezenas du Montcel, 1985). L'inflorescence portée par la hampe est recouverte de bractées qui se soulèvent les unes après les autres, laissant apparaître en premier des rangées de fleurs qui sont dites « femelles ». Les organes floraux femelles (ovaires, style et stigmate) sont plus développés que les organes floraux mâles (étamines).

Après l'émission d'un certain nombre de mains de fleurs femelles (de 1 à plus de 10), le bourgeon différencie les mains des fleurs hermaphrodites puis mâles. A l'anthèse, les doigts sont dirigés vers le bas et se redressent progressivement pour atteindre en une quinzaine de jours, le stade « doigts horizontaux » qui précède le retournement complet des doigts vers le haut.

Les mains sont composées de 10 à 30 fleurs ou doigts insérés sur le coussinet et numérotées à partir de la première main dégagée (Bakry *et al.*, 1997 ; Swennen & Vuylsteke, 2001)

Après la maturation du régime, la croissance du bourgeon terminal cesse; la pseudo tige et le feuillage sèchent et meurent.

La banane est un fruit climactérique ; il subit une crise respiratoire avant d'atteindre sa pleine maturité. L'évolution du fruit peut se décomposer en 4 phases à partir du stade de récolte :

- **La phase pré-climactérique** : elle précède le déclenchement de la maturation qui marque le début de la phase climactérique. Avant cette crise, le fruit évolue de manière continue, la couleur de la peau ne change pas, les variations d'intensité respiratoire et de la dureté de la pulpe ne sont pas significatives.
- **La phase de crise climactérique** : elle correspond à une augmentation brutale de l'intensité respiratoire (libération importante de CO₂) qui était sensiblement constante jusqu'à lors pour une même température. La dureté de la pulpe diminue brusquement tandis que la température et la transpiration du fruit s'accroissent.
- **La phase de maturation** : à cette phase, la banane est le siège de nombreux changements biochimiques et physiologiques dues à la synthèse de l'éthylène. On note également de nouvelles modifications dans la composition de la peau et de la pulpe du fruit.
- **La phase de sénescence** : c'est une période de simplification moléculaire caractérisée par un catabolisme généralisé. On note une accumulation des sucres réducteurs et une résorption totale des glucides lourds (John & Marchal, 1995 cités par Muirhead & Jones en 2000).

I.3. Maladies, ravageurs et moyens de lutte

Le charançon noir (*Cosmopolites sordidus*) et les nématodes (*Radopholus similis* et *Pratylenchus coffeae*) causent plusieurs dommages au bananier. Leur contrôle se fait par l'application d'insecticide autour de la souche de chaque plante (Gowen, 1995), l'utilisation d'un matériel de plantation sain sur un sol indemne de nématodes. Le parage et le pralinage des rejets avant la plantation sont également nécessaires. Parfois quelques gales causées par *Meloidogyne* sp. sont observées sur les racines des jeunes bananiers et ont des conséquences négligeables.

Les dommages foliaires sont dus *Tetranychys gloveri* Banks ; c'est un acarien qui vit à la face inférieure des feuilles. L'application d'acaricides permet de réduire son impact. L'hanneton phyllade (*Phylophaga guadalupeensis*) se nourrit des feuilles de bananier qu'il peut réduire à la nervure centrale surtout en bordure de parcelle. Leurs dégâts sont rarement importants et ne nécessitent pas un moyen de lutte particulier.

Chaetanaphothrips orchidii Moulton et *Chaetanaphothrips signipennis* Begnall (les thrips de la rouille), *Hercinothrips femoralis* Reuter, (le thrips de la rouille argentée), *Frankliniella parvula* Hood, (le thrips de la fleur) ont des symptômes qui déprécient la valeur commerciale des bananes. Leur contrôle se fait par l'engainage du régime en guise de prophylaxie et entraînent souvent des recours à certains traitements (Simon, 1993). D'autres insectes sont nuisibles en bananeraie (pucerons) du fait qu'ils sont des vecteurs potentiels du virus de la mosaïque du concombre responsable de la mosaïque en plages des bananiers qui perturbe fortement le développement de la plante.

Il existe des viroses qui attaquent les feuilles de bananier telles que la maladie des extrémités buissonnantes (Banana Bunchy Top Virus), la mosaïque en tirets des bananiers (Banana Streak Virus), la mosaïque de la bractée (Banana Bract Mosaic Virus), la mosaïque modérée du bananier (Banana Mild Mosaic Virus) (Jeger *et al.*, 1995 ; Chan, 1994).

Les bactérioses sont à l'origine de la pourriture du cœur. C'est le cas de la maladie de Moko ou flétrissement bactérien due à *Ralstonia solanacearum* (synonyme *Pseudomonas solanacearum*). Elle est semblable à la maladie du sang des bananiers. On a par ailleurs la bactérie *Erwinia carotovora* qui est responsable de la pourriture du rhizome. Le contrôle de ces maladies passe par l'inspection et la sélection du matériel de plantation, l'application des herbicides et des mesures de quarantaine (Jones, 2000).

Les champignons associés aux bananiers sont généralement responsables des maladies telluriques des fruits et foliaires. Parmi ces maladies, on a : la maladie de Panama (fusariose) provoquée par *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*. Ses attaques se traduisent par des nécroses des racines, du bulbe et par une réduction de la vigueur de la plante. Son contrôle passe par la désinfection des outils de travail (Jones, 2000).

Les champignons racinaires s'installent dans le système vasculaire, envahissent le bulbe et les gaines. Les champignons parasites foliaires entraînent des nécroses foliaires de faibles proportions et sont contrôlés par l'utilisation des traitements contre la cercosporiose.

Les maladies s'attaquant aux feuilles sont principalement celles causées par les *Mycosphaerella* spp. (Carlier *et al.*, 2003). La maladie des raies noires et la maladie de Sigatoka qui peuvent entraîner chacune une défoliation sévère des bananiers bien que la maladie des raies noires soit la plus importante.

Les maladies fongiques des fruits sont essentiellement causées par *Pyricularia grisea* (Pitting disease) et par *Trachysphaera fructigena* (Bout du cigare). *Deightonella torulosa* Sydow cause des points noirs sur les fruits qui aboutissent aux trous noirs peu profonds.

Les maladies post-récoltes sont l'anthracnose et la pourriture de la couronne, causées notamment par *Colletotrichum musae* (Wardlaw, 1931 ; Ploetz *et al.*, 2004). Ces champignons sont à l'origine de l'apparition des taches brunâtres sur les fruits mûrs et sur les couronnes de mains de bananes ; leur action est inhibée par les bains de thiabendazol.

Les mauvaises herbes entrent en compétition avec le bananier pour l'eau et les minéraux d'où l'utilisation de désherbages chimiques, d'herbicides appliqués par pulvérisation.

II. La culture de la banane au Cameroun

II.1. Le Cameroun

II.1.1. Situation géographique

Le Cameroun est situé en Afrique centrale et a une superficie de 475 440km²; il est frontalier au Tchad à l'Est et au Nord, à la République Centrafricaine à l'Est, au Nigeria à l'Ouest, à la Guinée Equatoriale, au Gabon et au Congo au Sud. Sa ligne côtière borde le golfe de Guinée et s'étend sur 320km (Figure 2).

La zone de production bananière y est très localisée et appelée la région bananière du Cameroun. Elle est située entre le Nord-Est du Mont Cameroun et le Mont Koupé et présente de bonnes conditions agricoles. On la retrouve dans les provinces du Littoral et du Sud-ouest probablement du fait de la proximité avec la mer et la richesse des sols (Figure 3).

Géographiquement, on distingue deux zones:

- La zone du mont Cameroun, où les plantations sont situées sur les basses pentes Est du volcan (altitudes 350 à 620m) et dans la plaine de Tiko (altitude 50-60m).
- La zone du Mounjo, où les terres cultivées en banane sont d'altitudes variables (45 à 520m), le relief étant déterminé par des plateaux de laves en pentes douces étagées de 45 à plus de 600m d'altitude (Delvaux *et al.*, 1986).

La nature volcanique du sol, sa composition physique et chimique, l'aspect de la végétation, concourent à placer la zone de culture de la banane au Cameroun parmi les situations agronomiques et pédologiques les plus riches du monde (Borel & Pelegrin, 1951).

II.1.2. Climat

Le régime climatique de la région bananière du Cameroun est équatorial à deux saisons : une longue saison des pluies d'avril à novembre avec de très faibles ensoleillements de juillet à septembre et une saison sèche de mi-décembre à mi-mars. Pendant cette période, la pluviométrie est très erratique; la « brume sèche » (harmattan) peut persister pendant plusieurs semaines (Delvaux *et al.*, 1986 ; Borel & Pelegrin, 1951).

Les précipitations annuelles sont comprises entre 2300 et 3000mm avec des variations locales liées à la présence de massifs montagneux et à l'exposition des plantations aux vents océaniques.

La température moyenne annuelle varie en fonction de l'altitude de 23 à 28° C, les moyennes annuelles de minima et de maxima variant entre 17 à 22° C et de 27 à 32° C.

L'humidité relative est élevée en saison pluvieuse (90-100%) et ne descend jamais en dessous de 60% durant la saison sèche (Delvaux *et al.*, 1986).



Figure 2 : Situation géographique du Cameroun.

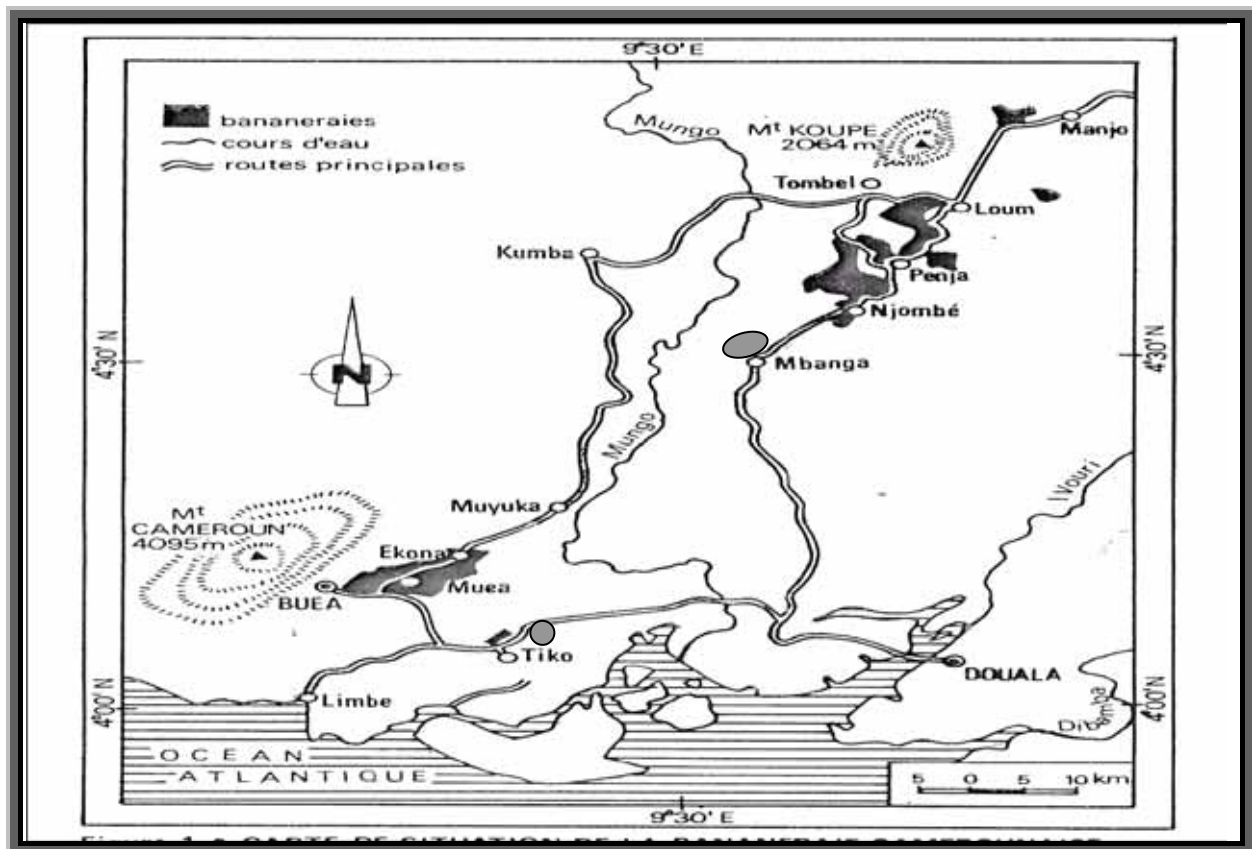


Figure 3 : Carte de la région bananière actuelle du Cameroun.

II.1.3. Sol

Au Cameroun les terres sont estimées arables à concurrence de 15%, 0,5% de celle-ci sont irriguées et plus de 50% sont occupées par la forêt. Les sols de la bananeraie camerounaise tous développés sur basalte d'époque quaternaire, diffère en fonction de leur stade d'évolution. Ce basalte est naturellement riche en calcium, en magnésium et relativement pauvre en potassium.

Le mont Cameroun et son pourtour représentent une zone d'altitude élevée à pluviométrie abondante. La présence des sols jeunes volcaniques confère à la zone des conditions agricoles correctes qui s'améliorent dans les sites moins poreux. Le Mont Koupé et la région de Mbanga-Kumba se rapproche du Mont Cameroun. Néanmoins une pluviométrie plus uniforme, comprise entre 2000 et 3000 mm/an, lui attribue de meilleures aptitudes agricoles malgré le relief plus accidenté (Le courrier du CRBP, 1997).

II.2. Historique

Selon les résultats d'une fouille archéologique en Ouganda, le bananier serait arrivé sur le continent africain il y a plus de 4000 ans, soit quelques 2000 ans avant la date généralement admise de son introduction dans la région. Des phytolithes de bananiers (corps microscopiques en silice qui s'accumulent dans les cellules végétales et acquièrent des formes distinctes) ont été découvert dans des couches sédimentaires qui dateraient de 4000-4500 ans (www.inibap.org, 2006).

Il y a quelques années, la découverte au Cameroun de phytolithes de bananiers vieux de 2500 ans (Mbida *et al.*, 2005) avait suscité la controverse car elle contestait l'idée que les bananiers avaient été introduits en Afrique de l'Est par des commerçants il y a environ 2000 ans. Les récentes fouilles en Ouganda viennent conforter la position de ceux qui plaident pour une arrivée très ancienne du bananier sur le continent africain (www.inibap.org, 2006).

Au Cameroun, les exportations de bananes ont baissées fortement entre le début des années soixante et les années quatre-vingt : elles étaient de 140.000 tonnes en 1961, mais ne dépassaient plus guère les 20.000 tonnes en 1987. Les exportations sont reprises momentanément au cours des années soixante-dix grâce au soutien de l'OCB, qui a aidé les planteurs à lutter contre la maladie de Panama. Mais dans les années quatre-vingt, la cercosporiose et des problèmes météorologiques ont affecté la production. Les exportations ont alors de nouveau chuté, enregistrant leur plus bas niveau en 1987 (www.fao.org, 2006). Cette même année, des sociétés étrangères ont commencé à jouer un rôle de premier plan dans le développement de la production des bananes d'exportation. C'est ainsi que la société Del Monte s'est engagée dans une entreprise en participation avec la CDC.

Aujourd'hui, CDC et Del Monte plantent quelques 2100hectares de bananiers : CDC fournit la terre et la main d'œuvre, Del Monte procure les crédits, l'aide technique et commercialise le produit. Aujourd'hui, CDC est le principal employeur du pays après l'État, et ses importations d'intrants agricoles bénéficient d'une exemption de taxes du gouvernement.

En 1990, l'OCB a été rachetée par la Compagnie Fruitière, la société en charge de la vente au détail des fruits de l'OCB en Europe, et qui est aujourd'hui sous le contrôle de Dole. Dole et Del Monte ont toutes les deux réalisées d'importants investissements dans l'irrigation, les installations de traitement des fruits et les équipements d'assainissement.

À ce jour, l'industrie bananière emploie directement quelques 10 000 personnes dans les zones rurales (Temple & Owona, 1999). Depuis 1988, les exportations de bananes ont enregistré un taux de croissance annuel de 10%. En 2002, leur volume s'est monté à presque 260 000 tonnes. Selon les estimations, 215 000 tonnes ont été destinées à la Communauté européenne; le reste a été exporté vers les pays de l'Europe de l'Est, d'Afrique du Nord et dans les pays africains voisins (Arias *et al.*, 2004).

II.3. Itinéraires techniques et méthodes culturales

II.3.1. De la plantation à la récolte

Les soins apportés aux bananiers dans la plantation avant la récolte diffèrent en fonction des plantations mais sont presque les mêmes.

Ainsi, l'**œilletonnage** est pratiqué dans le but de sélectionner les rejets qui assureront le renouvellement des bananiers par conséquent la constance de la structure de la population. Il se fait de manière précoce en plantation et évite la concurrence et le parasitisme vis-à-vis du pied-mère.

L'**effeuillage** se fait en plantation pour assurer la protection des fruits, éliminer les feuilles ou les parties de feuilles portant les symptômes de la maladie et celles susceptibles d'abîmer les fruits par frottement à la sortie de l'émergence.

A la sortie de l'inflorescence, on procède à l'**engainage** dans certaines plantations (gainage précoce) tandis que dans d'autres, le gainage se fait au stade doigts horizontaux. Il consiste au recouvrement du régime d'une gaine de plastique qui permet de tamponner les variations de température. Cette gaine est une barrière mécanique contre les parasites et protéger les fruits contre les agressions mécaniques dues par exemple aux frottements des feuilles. Elle fait par ailleurs office de barrière contre les spores et limite les attaques fongiques.

L'**épistillage** consiste à débarrasser le fruit formé de l'appareillage floral qui subsiste et flétrit à son extrémité libre. Cet appareillage floral qui constitue une source d'inoculum des champignons pathogènes (de Lapeyre de Bellaire *et al.*, 2000) comprend non seulement le pistil lui-même, mais également les étamines, le péricône et le tépale libre.

L'opération d'épistillage doit avoir lieu dans un temps relativement court compris entre le 8^{ème} et le 11^{ème} jour après la sortie du régime (au stade doigts horizontaux) quand la base des pièces florales se gélifie plus ou moins ; c'est ce qui rend l'opération très simple et rapide. Un seul passage de la main suffit alors à faire tomber toutes les pièces d'une même main du régime (Daudin, 1953).

L'épistillage se fait en même temps que l'**ablation des dernières mains et de la popote** ; cette ablation assure un bon allongement de l'ensemble des fruits. Au cours de cette opération, sur les deux dernières mains inférieures (constituée de fleurs mâles et femelles), une seule fleur femelle est préservée par main; on l'appelle « tire-sève ». Le rachis ou reste de popote ainsi que toutes les autres mains qui sont en dessous sont sectionnés. Le tire-sève sert à entraîner la sève jusqu'au bout du régime et à limiter les moisissures au rachis sectionné.

A ce même stade, le **marquage** est effectué, il facilite les prévisions de récolte 10 à 11 semaines à l'avance et permet d'estimer la production. Les régimes sont marqués d'une bande

de couleur spécifique dans le but d'identifier la date de floraison et de prévoir la date de récolte à un âge physiologique déterminé.

Le dégagement du régime est assuré par l'œilletonnage et l'effeuillage ; ceci afin d'éviter les problèmes de grattage et de blessure des fruits.

L'haubanage est pratiqué pour éviter la chute du bananier sous l'action du vent ou du poids du régime (lorsque le système racinaire de ce dernier est déficitaire) ; il est attaché aux pieds voisins par une ou deux ficelles.

II.3.2. La récolte

Les bananes destinées à l'exportation sont récoltées vertes et immatures. L'état physiologique des fruits au moment de la récolte conditionne leur évolution ultérieure en mûrissier et notamment la vitesse de développement des champignons.

L'intervalle de temps séparant le stade « doigts horizontaux » de la récolte s'appelle l'intervalle fleur-coupe (IFC) et est soumis à une loi de la température. Il est donc possible de prévoir la récolte à partir de la date de marquage des régimes à l'aide d'une bande de couleur et de l'utilisation des données météorologiques.

Le stade optimal de récolte des bananes destinées à l'exportation est basé sur la somme thermique de 900 ° C jours, calculée entre le jour de marquage au stade doigts horizontaux et la récolte au seuil minima de 14 ° C considéré comme 0° C. En effet, en dessous de ce seuil de 14 ° C, les températures ne sont pas comptabilisées dans le calcul des 900° C jours.

$$\text{N° de la semaine de récolte} = \text{Somme (T° C moyenne/ jour} - 14 \text{ ° C)} = 900 \text{ ° C}$$

Une récolte à 900 ° C permet un bon compromis entre le remplissage du fruit (grade à la récolte) et son potentiel de conservation appelé « durée de vie verte » qui correspond à l'intervalle de temps séparant la récolte de la crise respiratoire.

Cependant, la physiologie de la banane est influencée par de nombreux facteurs qui ne sont pas encore connus ou maîtrisés et le calcul des prévisions à 900 ° C jours n'est pas toujours suffisant pour obtenir un état physiologique reproductible.

La récolte du régime marque le début du dépérissement du pied-mère qui est alors coupé ; sa suppression enlève la dominance apicale sur le rejet préalablement sélectionné et permet de poursuivre la culture.

Au Cameroun IFC est en général de 9 à 12 semaines en saison de pluies et de 8 à 10 semaines en saison sèche (Demoulin, 2004).

De manière traditionnellement les fruits sont récoltés au grade commercial de 36 ou 34mm. Ce grade est mesuré à la veille de la récolte sur le doigt médian du rang externe de la deuxième main. La récolte des fruits en tenant compte de ce seul facteur ne permet pas toujours d'atteindre le stade optimal de la récolte.

II.3.3. A la station de conditionnement

Les opérations à la station d'emballage sont délicates et nécessitent beaucoup d'attention afin d'éviter les chocs. Au Cameroun, les régimes récoltés sont disposés sur des coussinets protecteurs dans un tracteur remorque étagé avant d'être transportés. Dans d'autres plantations, les régimes sont transportés par cableway qui est un réseau de câbles qui serpentent la plantation et est relié à la station d'emballage.

A leur arrivée les fruits sont déchargés et suspendus à une penderie, leur grade à la récolte est mesuré (Figure 4.a) puis ils subissent les opérations ci après :

Le dépattage qui consiste en la désolidarisation des mains de la hampe, à l'aide d'un couteau courbe en maintenant une partie suffisante de la couronne sur les mains (Figure 4.b). Ceci afin de permettre la découpe en bouquets sans pertes de fruits et avec une couronne de section carrée. Simultanément **le tri** des mains est effectué ; les mains de petites dimensions, souvent destinées au marché britannique, sont séparées des plus grandes.

On procède ensuite à **la découpe** ; les mains sont découpées en bouquets de trois à huit fruits exempts de défauts. Les fruits des extrémités des mains et ceux présentant des défauts sont éliminés (Figure 4.d).

Le trempage consiste à plonger les fruits d'abord dans le **bac de dépattage**, puis dans le **bac de lavage** qui contiennent les **eaux de lavage** enrichie en chlore et en alun (Figure 4.c). A la sortie des bacs de dépattage, les mains de bananes sont récupérées, parfois frottées à l'aide d'une éponge savonneuse avant d'être découpées. Le temps d'immersion dans les bacs de dépattage et de lavage doit être suffisant pour permettre l'écoulement du latex au niveau des zones de découpe. Le latex y est floculé par les agents acidifiants comme le sulfate d'ammonium.

Les bouquets sont ensuite récupérés, triés et placés sur des plateaux de 18 à 24 bouquets. Les plateaux sont préalablement pesés de manière à ajuster le poids des fruits à emballer selon le type de carton d'exportation (15 à 18kg), disposés sur le tapis roulant qui les acheminent vers les points de traitement (Figure 5.a, b, c).

Les traitements fongicides appliqués visent à réduire le développement des maladies post-récolte et se font principalement par un passage devant les ouvriers chargés de badigeonner au pinceau les couronnes de bouillies fongicides (imazalil, bitertanol, thiabendazole). Le traitement peut se faire par pulvérisation sous tunnel, par trempage ou par badigeonnage à la main (Figure 5.d).

La pesée et l'emballage des fruits se fait comme suit : le poids d'expédition des bananes est de 15 à 18, 5kg par carton, les bananes sont emballées dans des cartons de différentes taille selon le marché d'exportation contenant des sacs en polyéthylène de 18 à 23µm d'épaisseur. Après avoir mis les bouquets dans le carton (Figure 5.e), l'intérieur est vidé par un aspirateur et fermé avec un élastique.

La palettisation et l'expédition se font par la constitution des palettes de 48 cartons (Figure 5.f) qui sont envoyés vers le port de Douala dans des camions réfrigérés ou non où ils seront chargés dans des cales réfrigérées à 13° C des bateaux de la compagnie fruitière qui vont vers le Nord et le Sud de l'Europe.

Après la coupe, les bananes doivent être mises au froid avant 24 heures. S'ils ne sont pas conservés au frais, les spores déposées à la surface des couronnes fraîchement découpées rencontrent des conditions nutritionnelles et environnementales très favorables à leur germination (Muirhead & Jones, 2000).



a.) Mesure du calibre des doigts de bananes.



b.) Dépattage des mains de bananes.



c.) Mains de bananes trempent dans le bac de dépattage.



d.) Formation des bouquets de section carré.

Figure 4 : Traitement des bananes à la station d'emballage.

II.3.4. Du producteur au mûrisseur

- Arrivée des fruits

A leur arrivée après une dizaine de jours de transport, les fruits sont déchargés (**dépotage**), contrôlés pour éliminer les cartons contenant des fruits mûrs (**mûrs d'arrivée**). Ils sont par la suite transportés jusqu'aux mûrisseries où un contrôle de qualité sera effectué pour éliminer les fruits abîmés par les maladies de conservation comme l'antracnose et la pourriture de couronne. Les fruits sont stockés à 13 ° C durant une période d'environ 10 jours selon l'activité du marché.

- Facteurs influençant la phase pré-climactérique

La phase pré-climactérique aussi appelée « vie verte » est la période située entre la récolte et la crise climactérique qui correspond au début de la maturation du fruit. En conditions expérimentales, la fin de la DVV peut être déterminée en mesurant le pic de CO₂ correspondant à l'augmentation de l'intensité respiratoire (Chillet & de Lapeyre de Bellaire, 1996) ou en évaluant la perte de fermeté du fruit.

Dans la filière commerciale, l'objectif à atteindre est que la crise climactérique ne se produise pas avant l'entrée en mûrisserie. Le contrôle de la physiologie du fruit devient donc critique à cette étape. Toutefois, si les conditions de croissance optimales ne sont pas rencontrées, les fruits peuvent être récoltés au-delà de cet âge physiologique optimal (Figure 6). Une récolte à un âge physiologique avancé se traduit par une diminution de la DVV ; ceci est préjudiciable pour la durée de conservation des fruits (Bugaud & Lassoudière, 2005).

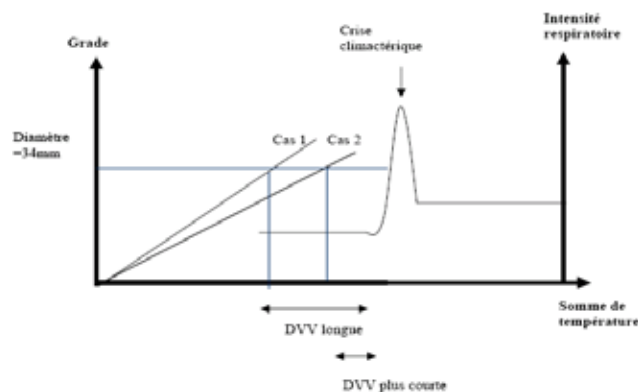


Figure 6: Incidence de la récolte au grade sur la durée de vie verte (DVV) des fruits (CIRAD, 2003)

De nombreux facteurs influencent la DVV (le stade physiologique du fruit à la récolte, la température, l'humidité relative et la composition atmosphérique).

a.) Le stade physiologique du fruit à la récolte

Il se mesure en somme de température et est exprimé en degré jour. Le stade de floraison « doigts horizontaux » correspond au stade zéro. Le nombre de degrés Celsius moyens journaliers supérieur à 14 correspond aux degrés « efficaces » reçus par le bananier. Par exemple si la moyenne de température mesurée sur une journée est de 26 ° C, le bananier aura reçue 12 degrés jour. Le nombre de degré est le véritable indicateur du stade physiologique qui n'est pas nécessairement corrélé au grade, notamment lorsque les bananiers sont stressés.



a.) Trie des bouquets au niveau du bac de lavage.



b.) Mise des bouquets sur les plateaux.



c.) Pesée des plateaux de bananes.



d.) Traitement fongicide des couronnes.



e.) Emballages des bananes.



f.) Palettisation des cartons.

Figure 5 : Conditionnement des bananes à la station d'emballage.

b.) La température

A des températures basses, on a un ralentissement de l'activité métabolique. La température idéale de croissance des champignons est comprise entre 25° C et 30° C tandis qu'à la température optimale de conservation des bananes (13° C) leur croissance est ralentie (Finlay & Brown, 1993). En deçà, on assiste à des dégâts du froid appelé frisure tels que les taches, le noircissement de la peau, la perte des arômes de la pulpe. C'est ainsi que les cales des bateaux transportant les bananes sont refroidies à 13-14° C (Muirhead & Jones, 2000). Cependant, cette température est plus ou moins critique selon la variété, l'humidité relative et la durée d'exposition. Entre 12,5° C et 21,5° C, la DVV est une fonction linéaire inverse de la température ; plus la température est basse et plus la DVV est importante. Entre 15° C et 35 ° C cette fonction devient logarithmique.

c.) L'humidité relative

En réaction à une faible humidité relative, les bananes subissent un stress hydrique qui déclenche la crise climactérique et diminue donc la DVV. De plus même si la sécheresse de l'air n'altère pas l'intensité respiratoire, elle modifie la couleur de la peau, la texture de la pulpe et le contenu en sucres solubles. Il est donc important de maîtriser cet élément et de conserver les bananes dans une atmosphère proche de 90% d'humidité. A l'origine, c'est ce qui a motivé l'emploi des emballages plastiques pour conserver les bananes exportées (Muirhead & Jones, 2000).

d.) La composition de l'atmosphère gazeuse

La crise climactérique se caractérise par une augmentation intense de la respiration. Elle nécessite donc une forte disponibilité d'oxygène. Une atmosphère gazeuse appauvrie en oxygène limite la capacité du fruit à débiter sa crise climactérique.

Depuis la fin des années soixante, de nombreux auteurs ont étudiés l'effet de différents types d'atmosphères sur la durée de stockage des bananes (Goos *et al.*, 1962 ; Thompson, 1998 ; Wade *et al.*, 1993 ; Chillet & de Lapeyre de Bellaire, 1996 ; Chamara *et al.*, 2000). Tous s'accordent à dire que des atmosphères en O₂ et CO₂ s'inscrivant dans des gammes approximatives de 2 à 5% et de 5 à 7% respectivement de ces deux gaz sont optimales pour prolonger la durée de vie verte des bananes.

Le dioxyde de carbone possède un effet inhibiteur sur la sensibilité à l'éthylène, hormone responsable du mûrissement, sur la synthèse endogène d'éthylène intervenant au début de la maturation, ainsi que sur l'activité du fruit. Les concentrations relatives de 2 en O₂ et de 5 en CO₂ permettent de multiplier la DVV des bananes stockées sous atmosphère modifiée. L'étude de l'effet de ce type d'atmosphère sur la cinétique d'évolution de la maturation des fruits a permis de montrer leur efficacité mais aussi l'importance de l'étanchéité des emballages.

Il existe deux types d'atmosphère gazeuse : l'atmosphère modifiée et l'atmosphère contrôlée. **L'atmosphère contrôlée** est établie par un appareil captant l'oxygène et diffusant le dioxyde de carbone de manière à conserver des concentrations en gaz préétablies. Ce système existe dans les cales de certains bateaux. **L'atmosphère modifiée** s'établit par conditionnement en sac de plastique hermétique usuellement appelé polybag. Ce dernier se présente sous forme d'un sac disposé à l'intérieur d'un carton d'emballage fermé hermétiquement. En respirant la banane va consommer l'oxygène disponible et rejeter du CO₂.

Les concentrations relatives en gaz à l'équilibre dépendent de l'intensité respiratoire du fruit, de la perméabilité sélective du plastique à ces gaz, de la température de stockage et de l'activité éventuelle de micro-organismes. La perméabilité du film aux différents gaz implique trois phases : la solubilisation des gaz dans le polymère, la diffusion à travers le film selon le gradient de concentration et l'émergence de l'autre côté du polybag. La diffusion du CO₂ et de l'O₂ à travers le film varie selon le matériau mais en général, ils sont quatre à six fois plus perméables au dioxyde de carbone qu'à l'oxygène. Une baisse de la teneur en O₂ parallèlement à une élévation de la teneur en CO₂ permet en effet d'allonger la phase pré-climactérique des bananes. Ainsi, l'activité respiratoire et métabolique des fruits est considérablement diminuée, avec notamment une réduction de la production d'éthylène (Chillet & de Lapeyre de Bellaire, 1996).

Les films plastiques utilisés pour la conservation des bananes sont des polymères de synthèse composés macromoléculaires linéaires dont la caractéristique principale est la thermo-plasticité. Il existe ainsi des polyéthylènes de basse densité et de haute densité. Ils sont peu perméables à la vapeur d'eau mais laissent facilement passer les autres gaz, à la différence des films en polyamide. Ces derniers possèdent une forte perméabilité à la vapeur d'eau et une faible perméabilité aux autres gaz en particulier à l'O₂ et au CO₂ (Pacico, 2001).

Les bananes vertes peuvent être conservées pendant plusieurs jours sans réfrigération. C'est ce qui se fait dans les régions tropicales où la réfrigération n'est pas toujours disponible. L'atmosphère modifiée couplée à des températures basses donne des prolongements de DDV intéressants.

- Stress dus aux atmosphères gazeuses

La toxicité sur les fruits est observée lorsque les concentrations en CO₂ sont très importantes. Ceci peut entraîner un assombrissement de la peau et un ramollissement de la pulpe tandis que le centre du fruit reste ferme et astringent. C'est pourquoi l'utilisation d'atmosphère modifiée requiert un choix particulier de polybag afin d'éviter de tels désagréments.

Les défauts de maturation s'observent au cours du mûrissage, où la maturation des fruits sera influencée par la présence d'atmosphère trop riche en CO₂ et/ou trop pauvre en O₂. Ces défauts se traduisent par le bouilli vert qui est la maturation de la pulpe sans changement de coloration du fruit et une altération des propriétés organoleptiques et de la coloration de la peau; d'où l'intérêt de déchirer le polybag avant l'induction du mûrissage à l'éthylène.

II.3.5. Maturation

Le mûrissage des fruits climactériques comme la banane se caractérise par une synthèse d'éthylène au début de la maturation. Elle diminue rapidement une fois la crise climactérique engagée. Le mûrissement artificiel se fait par l'application d'éthylène exogène qui induit une augmentation de la production d'éthylène endogène. On applique une dose de 1000 µl/l pendant 24 heures à une température de 14 ° C à 18° C.

Le concept de «**capacité du fruit à mûrir**» au cours du développement de la nécrose a été défini par les expériences de Chillet (2003) sur la sensibilité des bananes à l'anthracnose de blessure. C'est la capacité d'un fruit à mûrir lorsqu'il est soumis à une dose définie d'éthylène ; elle est déduite de la rapidité du mûrissement des fruits les plus sensibles à l'anthracnose de blessure lorsqu'ils sont soumis à un apport exogène d'éthylène. Ceci amène

à penser qu'il existe une CM pour chaque fruit à la récolte et donc un lien entre cette CM et la sensibilité du fruit à l'anthracnose de blessure. La CM est proportionnelle à la sensibilité à l'anthracnose et la nécrose se développe avec une production d'éthylène ; c'est ce qui fait mûrir le fruit. Le traitement des bananes avec du 1-MCP, un inhibiteur de l'éthylène bloquant le processus de maturation des fruits climactériques a mis en évidence l'effet nul de la maturation sur le développement de la nécrose. Il a démontré un lien étroit entre la CM d'un fruit, son âge physiologique et sa sensibilité à l'anthracnose de blessure.

Des changements biochimiques se produisent au cours de la maturation des fruits. Il s'agit de la dégradation de l'amidon en sucres qui entraîne une augmentation de la teneur en eau du fruit ; la dégradation de la chlorophylle par le passage de la couleur verte à la couleur jaune révélant les pigments caroténoïdes préexistants ; l'accumulation des composés aromatiques dérivés de processus métaboliques impliquant la formation d'esters et d'alcools ; la diminution des composés phénoliques dans la pulpe et l'hydrolyse des pectines causant le ramollissement du fruit.

II.3.6. Mise sur le marché et sénescence

Avant d'être commercialisées (en sortie mûrisserie), les bananes subissent un deuxième contrôle où les fruits contaminés et ayant des défauts de présentation sont mis à côté. Ils arrivent sur les étals au stade jaune-vert et continuent leur évolution chez le marchand et plus tard chez l'acheteur. On constate au cours du temps un changement de la couleur du fruit qui devient de plus en plus jaune, puis intense jusqu'à l'apparition de taches brunes (tigrage) qui indique le début de la sénescence. La pulpe poursuit sa maturation, perd ses propriétés organoleptiques en pourrissant et le fruit devient un milieu propice au développement des micro-organismes de tout genre.

II.4. Importance économique

La banane est la quatrième culture vivrière des régions en développement après le riz, le blé et le maïs. Elle est cultivée dans plus de 120 pays, sur près de 10 millions d'hectares. (www.inibap.org, 2006). La banane « dessert » d'exportation est la plus connue en Europe. Les producteurs de bananes d'exportation utilisent des quantités relativement importantes d'intrants agricoles.

La Côte d'Ivoire et le Cameroun sont les deux principaux pays exportateurs de bananes. Leurs marchés sont l'Europe et dans une moindre mesure, le Burkina Faso, le Mali, le Gabon, la Guinée équatoriale. Les exportations de bananes ivoiriennes et camerounaises qui ont représenté 98% de l'ensemble des exportations africaines de bananes en 2001, ont augmenté au taux soutenu de 10% par an de 1987 à 2000. Cette croissance contraste fortement avec le déclin constant qu'elles avaient connu entre 1960 et 1968, où elles reculaient de 2 % par an (www.fao.org, 2006).

La production de banane est assurée aussi bien par les entreprises agro-industrielles des secteurs public et privé que par les plantations villageoises. Le taux d'accroissement de la population dans les pays du tiers monde exige donc un accroissement de la productivité des exploitations agricoles. La relance de la production agricole constitue une plate forme privilégiée pour la relance de la croissance et la lutte contre la pauvreté.

II.5. Valeurs nutritives et utilisations

La banane et la banane plantain dans certaines parties du monde, elles fournissent plus du quart de la ration calorique. A l'état mûr, la plupart des types de bananes ne sont pas sucrés comme les bananes « dessert ». Ce sont des aliments féculents comme la pomme de terre, on les cuit pour les manger.

Les variétés de bananiers, regroupées sous le nom scientifique de *Musa*, sont riches en vitamines A, C, B₆ et ont une teneur élevée en calcium, potassium et phosphore, ce qui en fait une source de nutrition essentielle pour les pays en développement (www.futureharvest.org, 2006). Les bananes mûres sont riches en potassium et en sucres. Elles sont très nourrissantes et très digestes en raison de leur faible teneur en graisses. La banane dessert contient peu d'eau et est très riche en potassium, calcium, phosphore et vitamine A et B (Tableau 1 et 2).

Les bananes sont plus connues comme plantes alimentaires, mais pratiquement toutes les parties de la plante peuvent être utilisées d'une manière ou d'une autre (Musalit.inibap.org).

La banane comme aliment : Les bananes dessert, sucrées, sont généralement consommées crues alors que les bananes à cuire et les bananes plantain sont bouillies, cuites à la vapeur, frites ou rôties. La banane est utilisée en confiserie et en pâtisserie. Aux Philippines, le ketchup de banane est largement utilisé.

Production d'alcool : En Afrique centrale et orientale, le jus extrait des fruits mûrs de variétés de bananiers dites « à bière » est bu frais ou fermenté. La production d'alcool commercial ou médicinal est réalisée depuis de nombreuses années dans plusieurs pays.

Usages médicaux : elles contiennent de la vitamine A qui aide à la digestion. Les fruits mûrs sont utilisés pour le traitement de l'asthme et de la bronchite. La peau écrasée de bananes mûres peut être utilisée comme emplâtre sur les blessures. De plus, l'intérieur de la peau ayant des propriétés antiseptiques, elle peut être utilisée directement en cas d'urgence pour envelopper des blessures ou des coupures.

Source de fibres : ils fournissent des fibres très utilisées dans la fabrication de certains papiers de grande résistance nécessaire entre autre à la fabrication des sachets de thé et des billets de banque. La fibre sert également à la fabrication de cordes, de ficelles, de fils et des objets artisanaux variés.

Autres utilisations : Les grandes feuilles des bananiers sont fréquemment utilisées comme parapluies, assiettes « biologiques » jetables, comme couvercles ou comme nappes, comme matelas temporaires. Elles peuvent également être utilisées pour couvrir les toits, pour envelopper des aliments pendant leur cuisson et pour recouvrir les fours en terre afin d'en conserver la chaleur. On peut extraire l'amidon de leur pseudo tronc pour fabriquer la colle servant à la manufacture des cartons utilisés pour exporter les bananes fraîches. Dans les systèmes de culture mixte, les bananiers sont utilisés comme ombrage et comme plante de couverture pour toute une gamme d'espèces qui aiment l'ombre comme le cacaoyer, le caféier, le poivrier et le muscadier. Les plantes elles-mêmes sont prisées dans le monde entier comme plantes d'ornement, les graines des espèces sauvages sont utilisées pour la confection de colliers et autres bijoux. La sève de bananier peut être utilisée comme teinture et la cendre de bananier est utilisée pour la fabrication de savon. En Indonésie, on explore également la possibilité de fabriquer de la cire à parquets et du cirage à chaussures à partir des peaux de bananes. Les bovins et les porcs apprécient les bananes mûres, mais les fruits verts peuvent également être séchés et transformés en un aliment qui peut remplacer jusqu'à 70-80% les céréales dans leur alimentation.

Tableau 1: Valeur nutritive des bananes (Stover & Simmonds, 1987).

Composants	Banane		Plantain	
	Pulpe	Séchée	Pulpe	Séché
Eau	75,7*	-	66,4	-
Hydrate de carbone	22,2	91,4	31,2	92,8
Protéine	1,1	4,5	1,1	3,3
Graisse	0,2	0,8	0,4	1,2
Cendre	0,8	3,3	0,9	2,7
Energie (Kcal)	116	-	128	-

Tableau 2 : Teneur en vitamine de quelques variétés de bananes (Stover and Simmonds, 1987).

Nutriments	Gros Michel	Cavendish	Plantains Corne
Vitamine A	3,8*	5,1	61,6
Acide Ascorbique	13,3	20,0	26,7
Vitamine B	25,0	-	-
Thiamine	3,3	2,6	2,9
Riboflavine	3,8	5,3	5,9
Niacine	4,7	4,8	4,0

* valeurs en pourcentage (sauf l'énergie)

II.6. Critères de qualité

La progression des ventes entraîne une prise en compte de la demande des consommateurs qui sont de plus en plus soucieux de la qualité des produits frais destinés à la consommation. Il s'agit de la qualité intrinsèque du fruit, mais aussi de la qualité du système de production en relation avec un plus grand respect de l'environnement, de la sécurité des ouvriers et de la recherche d'un degré élevé en matière de sécurité alimentaire.

La qualité des fruits telle qu'évaluée lors de sa commercialisation se base sur les critères tributaires de nombreux facteurs qui interviennent avant et après la récolte des fruits. Ainsi, le niveau de contamination des fruits, leur sensibilité, leur âge physiologique, les défauts de présentation, leur capacité à mûrir, leur teneur en nutriments, le système de production influent sur la qualité des fruits.

Les facteurs techniques intervenant à la récolte, à la station d'emballage, durant le transport, le mûrissage et la commercialisation des fruits sont autant de facteurs pouvant modifier la qualité finale du fruit.

Les facteurs pédoclimatiques et agro-techniques au champ ainsi que le génotype du fruit influence également considérablement ces facteurs de pré-récolte et donc la qualité finale des bananes.

La norme codex pour les bananes (codex stan205-1997) s'applique aux variétés commerciales de bananes appartenant à l'espèce *Musa* spp. (AAA), de la famille des *Musaceae*, à l'état vert, destinées à être livrées à l'état frais aux consommateurs après conditionnement et emballage. Elle ne comprend pas les bananes à cuire (bananes plantain) ou celles destinées à la transformation industrielle.

Les bananes doivent être entières, le «doigt» servant de référence doit être ferme et sain; les produits présentant des signes de pourriture ou des altérations de nature à les rendre impropres à la consommation sont exclus.

Les bananes doivent être propres et pratiquement exempts de matières étrangères visibles, de meurtrissures, de ravageurs et de dommages causés par les ravageurs.

Le pédoncule doit être intact sans pliure, moisissures ou dessiccation, les pistils enlevés, exempts de malformations ou de courbures anormales des «doigts», de toute odeur étrangère, de dommages causés par de basses températures, d'humidité extérieure anormale, exception faite de la condensation qui apparaît lors du retrait de la chambre froide, ainsi que des bananes conditionnées en atmosphère modifiée.

En outre, les «mains» et les grappes doivent inclure une portion suffisante de la couronne d'une couleur normale, saine et exempte de moisissure et une couronne coupée nette, non en biais ou arrachée, sans fragments de pédoncule.

Le développement et l'état des bananes doivent être tels qu'ils leur permettent d'atteindre le degré de maturité physiologique approprié correspondant aux caractéristiques particulières de la variété, de supporter le transport et la manutention et de parvenir dans un état satisfaisant au lieu de destination de sorte qu'elles puissent mûrir de la meilleure des manières (www.ipfsaph.org, 2006).

III. La pourriture de couronne des bananes

III.1. Introduction

Les pourritures procèdent d'une décomposition des tissus qui fait suite à la dislocation des cellules résultant de l'altération enzymatique des pectines des lamelles mitoyennes. Souvent les cellules meurent, les tissus perdent leur consistance et deviennent le siège d'une colonisation par les organismes secondaires surtout des bactéries (Sémal, 1989).

La pourriture de couronnes est une maladie des tissus du coussinet qui survient quand les mains des bananes sont détachées de la hampe. Le fait de couper les mains de bananes de la hampe et de faire des bouquets expose les tissus blessés de la couronne à une infection par les champignons et le développement des pourritures de couronnes (Muirhead & Jones, 2000).

Les pourritures de couronne constituent avec l'anthracnose, les principales maladies post-récolte des bananes. Cette maladie cause des pertes majeures dans la plupart des zones d'exportation de la banane (Griffée, 1976).

III.2. Origine

Avant 1960, l'exportation des bananes se faisait sous forme de régimes entiers de fruits de la variété « Gros Michel ». Cette variété a cependant été très sensible à la maladie de Panama causée par le *Fusarium oxysporum* f.sp. *Cubense* et fut remplacée par des cultivars du sous-groupe « Cavendish », résistants à cette maladie. Cette période équivaut au début de la commercialisation des bananes exportées vers l'Europe sous forme de bouquets et transporté dans des cartons.

Cette pratique a apportée des facilités de manutention des fruits au cours du transport, et a en contrepartie favorisée le développement des pourritures de couronne. En effet, les couronnes ainsi découpées offrent une voie d'entrée aux pathogènes et se montrent dès lors beaucoup plus sensibles aux attaques fongiques et au développement des pourritures (Muirhead & Jones, 2000).

III.3. Symptômes de la maladie

La pourriture de couronne est une pourriture ferme, marron sombre et noire, qui se propage à travers la couronne et peut pénétrer dans le pédicelle des doigts du bouquet. Une couche de mycélium grise, rose ou blanc opaque recouvre la surface coupée de la couronne. Le mycélium et la pourriture gâtent l'apparence propre et fraîche du fruit mûrissant. Les doigts individuels peuvent tomber de la couronne affaiblie si la pourriture est profonde.

Dans les cas sévères, la dégénérescence atteint la pulpe jusqu'à provoquer la désolidarisation des bouquets (Wallbridge & Pinegar, 1975) ; ceci entraîne la perte du fruit. Le développement de la maladie stimule également le mûrissement des fruits.

III.4. Agents pathogènes

La connaissance des relations climat-plante-pathogène peut déboucher sur la détermination des zones géographiques, homogènes quant aux paramètres du milieu pouvant déclencher, favoriser ou empêcher le développement d'une maladie (Le poivre, 1989). Contrairement aux autres maladies des bananes, un seul microorganisme n'est pas responsable de la pourriture de couronnes. Il s'agit d'un large complexe de champignons (Wallbridge & Pinegar, 1975) qui diffèrent en fonction des zones de production, des périodes de l'année (Mérédith, 1971 ; Slabaugh & Grove, 1982 ; Hostachy *et al.*, 1990) et des couronnes elles mêmes (Lukezic *et al.*, 1967). Le rôle exact de chacun des constituants du complexe parasitaire reste encore mal défini.

Colletotrichum musae est souvent considéré comme le pathogène primaire de la pourriture de couronnes des bananes (Finlay & Brown, 1993), car il est le plus virulent et est capable de provoquer des symptômes sévères à partir d'infimes quantités d'inoculum (Greene & Goos, 1963 ; Lukezic *et al.*, 1967 ; Shillingford, 1976 ; Finlay & Brown, 1993 ; Krauss *et al.*, 1998). Les champignons responsables de la maladie pour la banane exportée en carton sont le plus souvent, des *Verticillium theobromae*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium roseum*, *Ceratocystis paradoxa* et *Botryodiplodia theobromae* considérés comme pathogènes secondaires.

D'autres tels que *Nigrospora sphaerica*, *Thielaviopsis paradoxa* ainsi que plusieurs espèces de *Cladosporium* sp., *Cephalosporium* sp., *Penicillium* sp. et *Aspergillus* sp. semblent quant à eux avoir une importance mineure (Lukezic *et al.*, 1967 ; Greene & Goos, 1963 ; Ogundera, 1987 ; Marin *et al.*, 1996 ; etc.). Lukezic *et al.*, 1967 ont quelques fois isolées des bactéries des couronnes.

L'importance de *Colletotrichum musae* et des *Fusarium* sp. en tant que pathogènes primaires (Lukezic *et al.*, 1967 ; Knight *et al.*, 1977) ou secondaires (Greene & Goos, 1963 ; Finlay & Brown, 1993) des pourritures de couronne demeure discutable.

L'existence de relations antagonistes ou synergiques entre les différents constituants du complexe parasitaire de la pourriture de couronne n'est pas clairement définie. Toutefois, le pouvoir pathogène du complexe semble être inversement proportionnel à sa diversité. Ainsi, plus le complexe est diversifié, plus il s'établit des relations antagonistes et moins il est virulent (Krauss *et al.*, 2001).

Une relation antagoniste semble avoir été détectée par Lassois (2003) qui a constatée que le pouvoir pathogène de *C. musae* diminue quand il est associé à d'autre pathogène tandis que Lukezic *et al.* (1967) ont observés une relation synergique entre *Fusarium roseum* et une bactérie.

III.5. Cycle de la maladie et éléments épidémiologiques

III.5.1. Contamination des fruits au champ

a.) La pollution des fruits

Les champignons responsables de la pourriture de couronnes vivent en saprophytes dans les feuilles mortes de bananes, les fleurs, les bractées, les fruits en décomposition au sol, la hampe (Lukezic *et al.*, 1967) et sont des composés omniprésents de la microflore des plantations de bananes (Muirhead & Jones, 2000).

En plantation, les spores présentes dans l'air telles que les *Fusarium* et les *Verticillium* s'établissent sur des régimes de bananes tandis que les spores présentes dans l'eau telle que les conidies de *Colletotrichum musae* sont éclaboussées sur le fruit par la pluie ou l'eau d'irrigation. Il semble que les fleurs et la dernière bractée du régime soient les principales sources d'inoculum efficace de ce pathogène pour la pollution des fruits (de Lapeyre de Bellaire & Mourichon, 1997).

Les spores de certains pathogènes de la pourriture de couronne peuvent rester pendant plusieurs mois en vie dans les champs sous des conditions extrêmes de température et d'humidité relative (Muirhead & Jones, 2000). Les conidies germent dans l'eau, sous des conditions favorables telles que la température, la présence de blessure, le degré de maturité des fruits et la susceptibilité génétique de l'hôte (Wardlaw, 1931).

En Guadeloupe, le pic d'inoculum de *C. musae* et des espèces *Fusarium* est très rapproché des plants et se produit entre 25 et 40 jours après l'émergence des hampes soit au stade « doigts horizontaux », période critique au-delà de laquelle, la pollution des fruits est très faible et ce jusqu'à la récolte (de Lapeyre de Bellaire & Mourichon, 1997).

Les vecteurs de la contamination sont principalement le vent et la pluie ; l'ampleur de leur action est importante quand ils sont couplés. Les conidies de *C. musae* sont exclusivement dispersées par l'éclatement des gouttes de pluies ou d'eau heurtant le mycélium (Waller, 1972), tandis que celles du *Fusarium* sp. semblent profiter des deux modes de transport (Lukezic *et al.*, 1967). La possibilité de transferts d'inoculum entre les différents pieds de bananiers plantés à 2-3m d'intervalle dans les bananeraies est envisageable (de Lapeyre de Bellaire & Mourichon, 1997).

La forte corrélation entre la quantité d'eau incidente sur les bananiers (eaux de pluies et eaux d'irrigation) et la taille des nécroses observées sur les couronnes en conditions naturelles d'infestation traduit bien le rôle majeur de l'eau dans la contamination des fruits (Demoulin, 2004).

Certains insectes attirés par les fleurs de bananiers pourraient jouer un rôle dans la dispersion de l'inoculum. Les essais n'ont cependant concerné que des espèces de drosophiles faiblement attirées par ces inflorescences (Simmonds & Mitchell, 1940).

b.) La germination des spores et l'infection de l'hôte

La germination requiert une dilution préalable par l'eau de la matrice mucilagineuse épaisse entourant les conidies. Celle-ci agit comme un inhibiteur de la germination des conidies tant que les conditions climatiques ne sont pas favorables (Mondal & Parbery, 1992). La germination se réalise à des gammes de températures allant de 19 à 36° C (Simmonds & Mitchell, 1940).

Les pathogènes impliqués dans les pourritures de couronne étant essentiellement des parasites de blessures, un développement de ces champignons sur les parties vertes non meurtries du régime ne peut se produire (Chillet *et al.*, 2006). *C. musae* a la capacité d'infecter des organes encore verts en l'absence de blessures (Muirhead & Deverall, 1981). La germination de *C. musae* se limite à l'élaboration d'un tube germinatif se différenciant progressivement en un appressorium adhérant fortement à la surface de l'hôte. Il se forme ensuite un hyphé d'infection subcuticulaire restant inactif jusqu'à la maturation des fruits (Muirhead & Deverall, 1981).

Ce type d'infection, caractérisé par une interruption du processus infectieux du fait des conditions imposées par la physiologie de l'hôte, est qualifié de « quiescente » (Swinburne &

Brown, 1983). C'est ainsi que *Colletotrichum musae* établie des infections latentes qui survivent dans les fruits verts des bananes et probablement les tissus de la couronne pour quelques mois et procurent une lourde charge d'inoculum aux fruits à la récolte. L'adhésion des conidies de *C. musae* semble se faire préférentiellement sur des surfaces hydrophobes, telles la cuticule des fruits, grâce à la production d'une glycoprotéine nommée « adhésine » (Sela-Buurlage *et al.*, 1991).

III.5.2. Contamination des fruits en station de conditionnement

Les diverses sources d'infection sont les couteaux de découpe, l'air régnant dans la station, et l'eau des bacs de lavage charriant une grande quantité de spores détachées de la surface des fruits (Lukezic *et al.*, 1967 ; Finlay *et al.*, 1992). La coupure des mains sur le régime nouvellement récolté et chargé d'une grande quantité d'inoculum résulte en un nombre d'opportunité pour les champignons de la pourriture de couronne.

Premièrement, ils créent une blessure substantielle qui est directement accessible aux spores des champignons présents dans l'air ou l'eau. Les spores présentes dans l'eau utilisée pour laver les bananes peuvent s'introduire dans les tissus blessés jusqu'à 5 à 7mm de profondeur (Greene & Goos, 1963).

Deuxièmement, le couteau qui sert à détacher les mains peut lui même entraîner l'inoculum de la surface des couronnes aux tissus blessés (Finlay *et al.*, 1992) et la blessure peut même finir par activer l'infection latente préétablie par *Colletotrichum musae* dans les tissus de la couronne. Les spores qui arrivent sur la surface de la couronne coupée germent en réponse à l'environnement favorable et aux stimuli nutritionnels.

Le progrès de la maladie de ce point dépend de quelques facteurs principalement la quantité d'inoculum, l'état physiologique du fruit, la durée de temps avant le début du mûrissement et les conditions environnementales avant et après le début du mûrissement (Finlay & Brown, 1993 ; Chillet & de Lapeyre de Bellaire, 1996). Les fruits mûrs blessés et intacts sont plus facilement infectés par les champignons comparés aux fruits non mûrs (Vijava *et al.*, 2000).

Le maintien des fruits à température ambiante est favorable à la germination des spores déposées à la surface des couronnes fraîchement découpées. Les optima de température (23-33° C), et d'humidité (Simmonds & Mitchell, 1940) sont en effet couramment rencontrés dans les stations de conditionnement camerounaises tout au long de l'année (Figure 7). Le développement de la maladie peut ainsi être très rapidement initié au cours de la manutention des fruits. Le processus infectieux conduisant à l'invasion des tissus de la couronne se poursuit ensuite d'une manière plus lente durant le transport des fruits dans des containers frigorifiques (Bastiaanse, 2006). Ce processus s'accélère enfin avec le processus de maturation des fruits lors de leur passage en mûrisserie, puis au cours de la mise en marché (Greene & Goos, 1963).

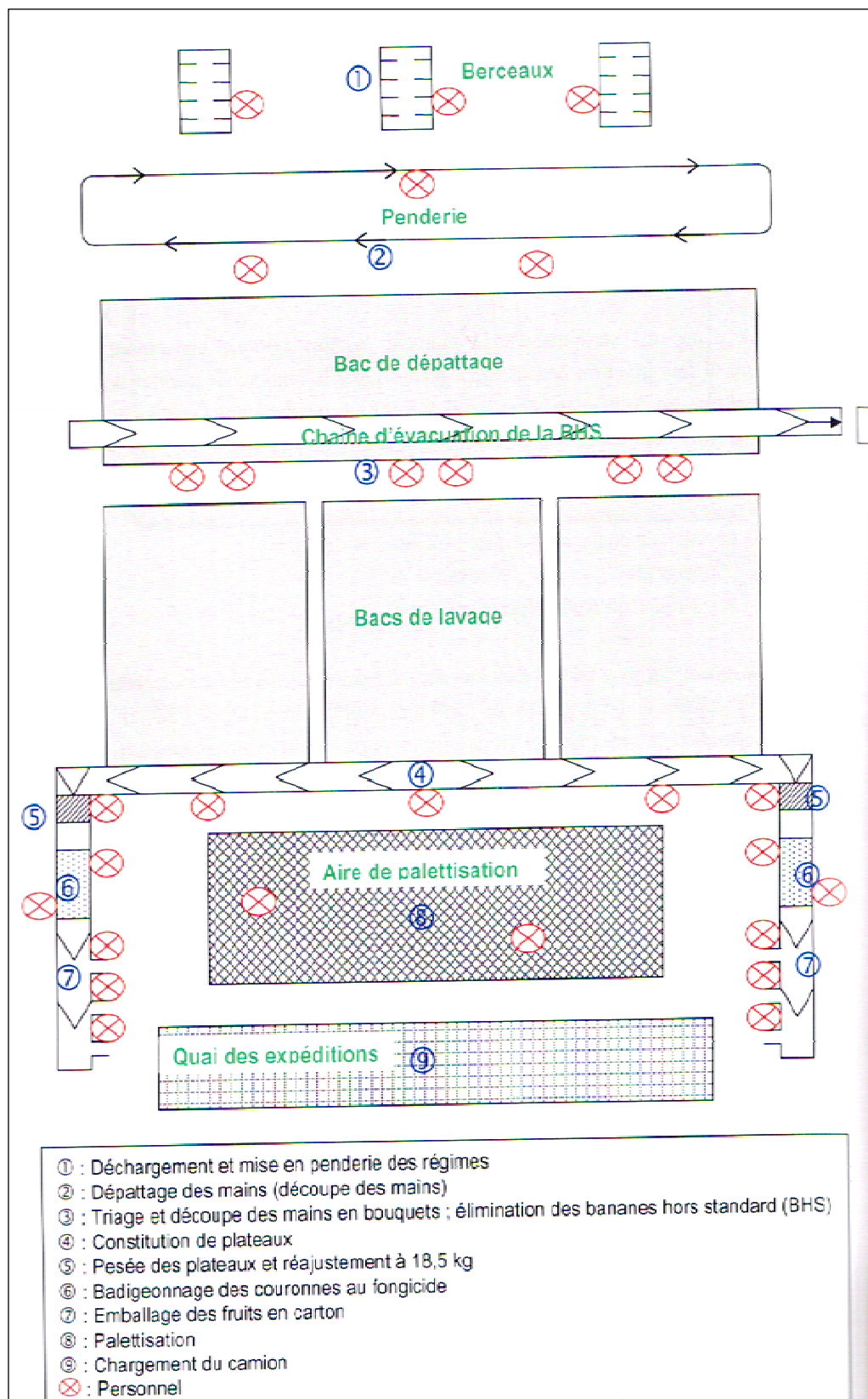


Figure 7 : Schéma d'une station d'emballage (Demoulin, 2004).

IV. Les microorganismes associés à la pourriture de couronne

Ce sont essentiellement des parasites de blessures et leur développement sur les parties vertes non meurtries du régime ne peut se produire (Chillet *et al.*, 2006). Un seul des ces pathogènes (*C. musae*) a la capacité d'infecter des organes encore verts en l'absence de blessures (Muirhead & Deverall, 1981). Ce sont des espèces d'origine tellurique comprenant des populations pathogènes de plantes et des populations dites non pathogènes. Ces champignons sont capables de se développer en saprophyte dans le sol mais certains sont parasites de plusieurs espèces végétales d'intérêt économique.

IV.1. *Verticillium theobromae*

C'est un champignon filamenteux largement répandu dans la végétation et le sol qui s'établit sur la matière en décomposition. Certaines espèces de *V. theobromae* sont pathogènes aux arthropodes, aux plantes et à d'autres champignons ; il est habituellement considéré comme un contaminant (www.doctorfungus.org).

Les conidiophores de *V. theobromae* sont longs, mesurent 150-400µm x 4-6µm. Ils sont solitaires ou branchés (en petits groupes) à la surface du tissu infecté (Figure 7-1.a). Les conidies sont disséminées par des courants d'air et infectent les parties des fleurs qui sèchent. Les conidies ovales à allongées sont situées à l'extrémité de phialides effilés et agrégées à l'intérieure d'une tête mucilagineuse translucide et arrondie (Jones & Stover, 2000).

Les colonies de *V. theobromae* ont une croissance moyennement rapide à rapide. A 25° C sur du milieu PDA, les colonies ont une structure veloutée à laineuse. La couleur du mycélium vue de face est blanche au départ et devient jaunâtre, rouge, brun-rosé ou vert ; tandis qu'à l'envers de la boîte, il est blanc ou brun (couleur rouille).

IV.2. *Colletotrichum musae*

Le genre *Colletotrichum* regroupe les champignons imparfaits cloisonnés appartenant à l'ordre des Mélanconiales (de Lapeyre de Bellaire, 1999). Une faible quantité d'inoculum de ce champignon, est capable de provoquer des pourritures de couronne sévères (Greene & Goos, 1963 ; Lukezic *et al.*, 1967 ; Shillingford, 1976 ; Finlay & Brown, 1993).

Les acervules contiennent des conidiophores qui produisent des conidies. Les acervules ont d'abord été retrouvés dans les fruits mais peuvent être présents dans les pédoncules, les pétioles et occasionnellement dans les feuilles. Les acervules sont arrondies, allongées et éclatées jusqu'à 400µm de diamètre. Elles sont composées de pseudo-parenchymes épidermiques et subépidermiques de couleur brun-pâle qui deviennent subhyaline vers la région des conidiophores. Les conidiophores sont cylindriques, hyalins, septés, branchés. Subhyalins à la base puis effilés au niveau de l'apex, ils mesurent 30µm x 3-5µm. Les conidies sont hyalines, non septées, de forme ovale à ellipsoïdale ou cylindrique et sont souvent fasciées à la base (Muirhead & Jones, 2000).

Les colonies sont habituellement sombres avec un mycélium aérien constitué de nombreux sclérotés noir et marron clair ; à l'envers, la culture est de couleur marron foncé. Les appressoria sont communs au genre, de couleur marron et mesurent 11-16.5µm x 6-9.5µm (Figure 8-1.b, c, d).

IV.3. *Fusarium* spp.

Les champignons du genre *Fusarium* regroupe les *Ascomycota* de l'ordre des Hypocreales et de la famille des *Hypocreaceae*. Les *Fusarium* spp. sont des champignons filamenteux largement répandus dans les plantes et dans le sol. La majorité des espèces de *Fusarium* sont communs aux régions tropicales et subtropicales, tandis que d'autres vivent dans les sols des climats froids. Les *Fusarium* spp. sont une espèce de champignons capables de se développer en saprophyte tandis que certaines souches sont parasites chez beaucoup d'espèces végétales et ne peuvent pas être distinguées morphologiquement (Ploetz & Pegg, 2000). Ces formes pathogènes montrent un très haut niveau de spécificité d'hôte et sont regroupées en "formes spéciales" (f. sp.), en fonction de l'espèce végétale qu'elles sont capables d'infecter.

Les colonies ont habituellement une croissance rapide 4 à 7mm/jour sur du PDA à 24° C (Ploetz & Pegg, 2000). Elles sont de couleur pâle ou claire dépendamment de l'espèce, peuvent avoir ou non un mycélium aérien cotonneux. La couleur de leur thalle varie du blanchâtre au jaune, du brunâtre au rose, au rougeâtre ou à une nuance lilas.

Les espèces de *Fusarium* produisent typiquement les deux types de macro-conidies et micro-conidies des phialides effilés. Les macro-conidies sont hyalines, constituées de deux à quelques cellules fusiformes ou en forme de faucille, surtout avec une cellule apicale allongée et une cellule basale pédiculée. Les micro-conidies sont constituées d'une à deux cellules hyalines, pyriforme, fusiforme à ovoïde, droite ou incurvée (Figure 8-2). Les chlamydoconidies peuvent être présentes ou absentes (www.mycology.adelaide.edu.au). L'identification des espèces *Fusarium* est souvent difficile du fait de la variabilité entre les différents isolats (la forme, la taille des conidies, la couleur de la colonie) et parce que les caractéristiques (traits recherchés) requises ne sont pas souvent bien développées (absence de macro-conidies chez certains isolats après la culture).

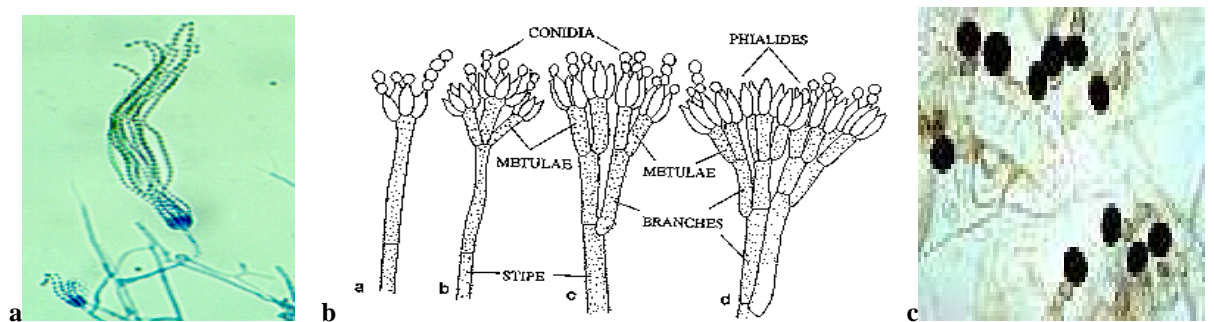
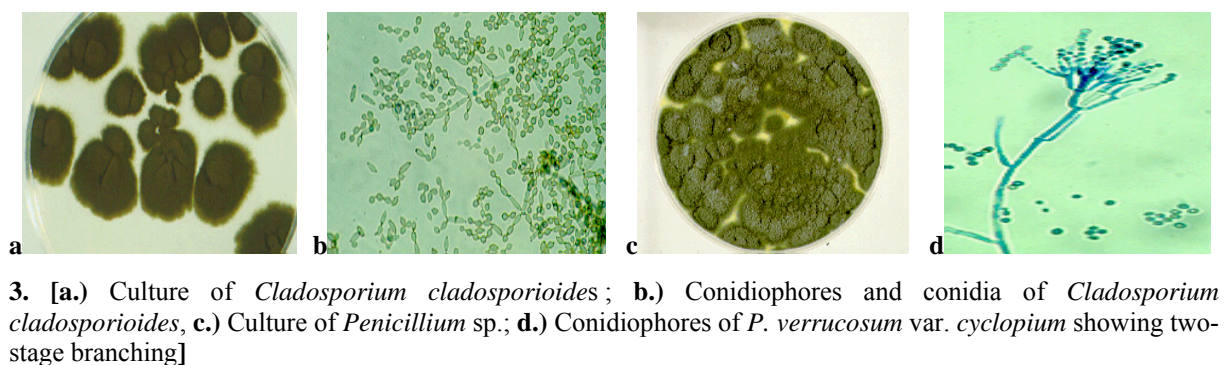
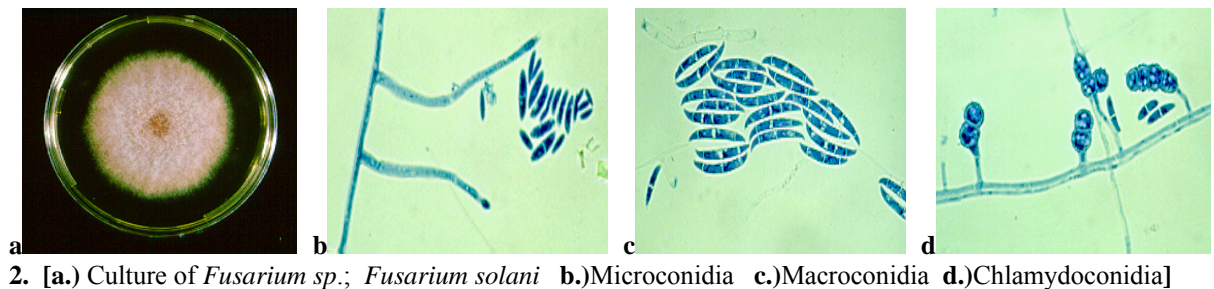
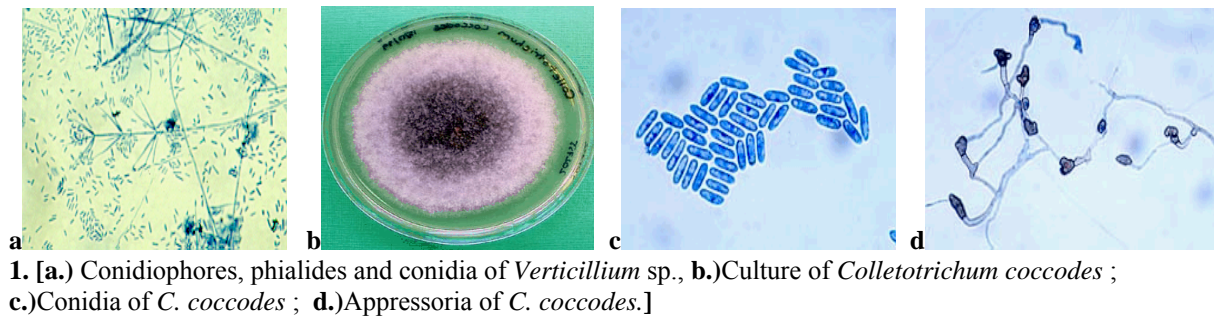
IV.4. *Ceratocystis paradoxa* et *Thielaviopsis paradoxa*

Thielaviopsis paradoxa, *Chalara paradoxa* et *Ceratocystis paradoxa* sont des noms donnés à un même pathogène (Chase & Broschat, 1991 ; Garofalo, 1999) responsable des malformations foliaires chez le palmier, la désintégration du tronc et/ou des bourgeons. Le champignon pénètre par des blessures non cicatrisées ou par des lésions causées par des ravageurs de toute nature. Il est responsable de la pourriture noire des rejets et du fruit, tâches blanches sur feuilles chez l'ananas. Les spores produites par *Thielaviopsis* sont viables dans le sol et les débris végétaux (Phyto veille, 2006).

Chez le bananier il est responsable de la pourriture du bulbe ; il cause l'extension des surfaces imbibées d'eau de couleur brune ou sombre qui se développent après le plantage et cause la destruction des tissus (Ploetz & Pegg, 2000). Il est également impliqué dans la pourriture de couronne et des pédoncules des bananes (Muirhead & Jones, 2000).

IV.5. *Botryodiplodia theobromae*

Ce pathogène est actuellement appelé *Lasiodiplodia theobromae* et responsable de la pourriture des doigts de banane (*Botryodiplodia* finger rot). Dans les plantations de bananes, il se retrouve dans la matière en décomposition. Ses pycnidies sont noires, en forme de flacon



Sources: www.doctorfungus.org(4c), www.mycology.adelaide.edu.au

Figure 8 : Les pathogènes de la pourriture de couronne

avec un cou court, d'un diamètre de 250-300µm et contiennent de court conidiophores. Les conidies hyalines sont sécrétées seules. A l'état mature, elles sont constituées de deux cellules brunes, non resserrées. Les spores longitudinales striées mesurent 15µmx25µm. Les conidies sont disséminées par le vent et l'eau. Le fruit est infecté au niveau de la fleur située à l'extrémité des doigts et à travers les blessures (Muirhead & Jones, 2000).

IV.6. *Nigrospora sphaerica*

C'est un champignon *Ascomycota* de l'ordre des Trichosphaeriales et de la famille des Trichosphaeriaceae. Il est encore appelé *Nigrospora musae* et responsable de la maladie appelée squinter. Le pathogène pénètre le fruit à travers le pédicelle coupé et progresse dans le fruit pendant qu'il mûrit. La pulpe décolorée devient une masse liquide qui peut gicler de l'extrémité du fruit s'il est pressé. Les conidies de *N. sphaerica* en culture à maturité sont noires de jais et mesurent 18µmx15µm. Il vit dans la matière en décomposition des plantations de bananes. Il est disséminé par le vent (air) et l'eau ; il est également présent dans les eaux de lavages des bananes (Muirhead & Jones, 2000). *Nigrospora* poussent rapidement et produit des colonies cotonneuses sur le milieu PDA à 25° C. Les colonies sont mûres au bout de 4 jours. La couleur de la colonie est initialement blanche, devient grise avec des endroits noirs et définitivement noire des deux cotés de la boîte de culture. La sporulation peut prendre plus de 3 semaines pour certains isolats (Figure 8-4.c).

IV.7. *Cladosporium* sp.

C'est un champignon *Ascomycota* du sous-phylum des *Ascomycotina* et du genre *Cladosporium*. *Cladosporium musae* Mason est responsable de la maladie des taches des vieilles feuilles de bananier appelée Cladosporium speckle. Il produit des conidiophores brun-sombres, bien érigés, qui peuvent être visibles à la loupe. Ces derniers ont 6-8µm de large et environ 610µm de long avec des cellules basales aux parois épaisses. Les cellules conidiogènes sont branchées à l'apex du conidiophore et peuvent être terminales ou intercalées. La dimension des conidies est de 6-22µmx3-5µm. Elles sont ellipsoïdales, cylindriques ou fusiforme et tendent à être réduites au milieu avec une ou plus d'une cicatrice protubérante à chaque extrémité (Jones, 2000). Les conidies sont constituées de 1 à 4 cellules lisses, verruqueuses avec un ombilic (hile) de couleur sombre bien distinct et produites en chaînes acropétales branchées (Figure 8-3.a, b).

IV.8. *Cephalosporium* sp.

Le genre *Cephalosporium* regroupe les champignons appartenant aux *Ascomycota*, au sous phylum des *Ascomycotina* à l'ordre des Hypocreales et à la famille des Hypocreaceae. Les colonies ont une croissance plutôt lente sur le PDA à 25° C, la majorité ont une couleur brun-olive à brun-noir tandis que certaines sont quelques fois grises. Elles deviennent poudreuses du fait de la production abondante de conidies. Les hyphes végétatifs, les conidiophores et les conidies sont également pigmentés. Les conidiophores sont plus ou moins distincts des hyphes végétatifs.

Acremonium est un synonyme de *Cephalosporium*. Les *Acremonium* spp. sont des champignons filamenteux, cosmopolites habituellement isolés des débris végétaux et du sol. Leur cycle sexuel n'est pas bien défini. Ils sont responsables de la nécrose des fleurs de la bractée et des tâches nécrotiques sur les plus jeunes feuilles (enroulées) des plants de bananiers matures (Ploetz & Pegg, 2000).

La vitesse de croissance des colonies est modérément rapide, elles sont matures au bout de 5 jours. Le diamètre de la colonie est de 1-3cm suite à l'incubation à 25° C pendant 7 jours sur le milieu PDA.

La texture de la colonie est compacte, plate ou plissée et occasionnellement relevée au centre ; elle peut également être poudreuse. En vieillissant, la surface de la colonie peut devenir cotonneuse du fait de l'excès de croissance des hyphes relâchés. La couleur de la colonie est blanche, gris-pâle ou rose-pâle à la surface. L'envers est soit incolore ou on observe la production des pigments de coloration rose.

Acremonium spp. possède des hyphes hyalins et septés qui sont typiquement très fins et étroits. L'hyphe végétatif forme souvent des cordes d'hyphes. Des phialides érigés, non branchés et solitaires sont formés directement à l'embout de l'hyphe, des cordes de l'hyphe ou des deux. Les phialides sont séparés de l'hyphe par une cloison et s'effilent à travers ses extrémités.

A l'extrémité des phialides se trouve des conidies de 2-3µm x 4-8µm de taille. Elles apparaissent habituellement en grappe, en balle ou rarement en chaînes fragiles. Les conidies sont liées dans une matière gélatineuse. Elles peuvent être seules ou multicellulaires, fusiformes, avec une légère courbure ou ressemblent à un croissant superficiel. Ces propriétés structurelles des conidies varient dépendamment de l'espèce.

IV.9. *Penicillium* sp.

Le genre *Penicillium* regroupe les champignons appartenant aux *Ascomycota* à la classe des *Euascomycetes*, à l'ordre des *Eurotiales*, à la Famille des *Trichomaceae*. Les champignons du genre *Penicillium* sont filamenteux exception faite de *Penicillium marneffe* (dimorphe thermal). Les *Penicillium* spp. sont largement répandus dans la matière végétale en décomposition, le sol et l'air. Les *Penicillium* spp. sont habituellement considérés comme des contaminants mais peuvent causer des infections. En plus de leur potentiel infectieux, les *Penicillium* spp. produisent des mycotoxines.

Les colonies de *Penicillium* ont une croissance rapide, plate, filamenteuse et velouteuse, de texture laineuse ou cotonneuse. Elles sont initialement blanches et deviennent vert-bleu, gris-vert, gris-olive, jaune ou rosée des fois. Le revers de la culture est généralement pâle à jaunâtre.

L'organisation des phialides à l'extrémité des conidiophores est très typique. Ils forment des grappes comme des brosses qui sont caractéristiques des "pénicillé". Les conidies de 2.5µm – 5µm de diamètre sont rondes, unicellulaires, et visualisées sous forme de chaînes non branchés à l'extrémité des phialides (Figure 8-3.c, d).

Les hyphes sont septés et hyalins de 1.5 à 5µm de diamètre. Les conidiophores sont simples ou branchés et « Metulae » (Figure 8-4.a, b) ; on observe également des phialides et des conidies. Les branches secondaires qui se forment sur les conidiophores sont appelés « Metulae ».

Il est à noter que les extraits purifiés de quelques *Penicillium* (*P. oxalicum*, *P. anaticum*) et *Aspergillus niger* ont montré une forte activité nématocide (Sarah, 2000).

IV.10. *Aspergillus* sp.

Le genre *Aspergillus* regroupe les champignons appartenant aux *Ascomycota*, à l'ordre des Eurotiales, à la Famille des *Trichomaceae*. Les colonies d'*Aspergillus* ont habituellement une croissance rapide, sont de couleur blanche, jaune, jaune-brun, marron à noir ou d'une nuance verte.

Les conidiophores érigés et denses, se terminent par une vésicule couverte avec soit une seule couche de phialides semblable à une palissade ou une couche de cellules sous-tendues (metulae) qui portent un petit verticille de phialides. La vésicule, les phialides, le metulae (s'il est présent) et les conidies forment la tête conidiale.

Les Conidies sont unicellulaires, lisses ou à parois rugueuses, hyalines ou pigmentées et sont formés de longues chaînes sèches qui peuvent diverger ou être agrégées en colonnes compactes. Certaines espèces peuvent produire des sclérotés. Tandis que l'état téliomorphe a été décrit seulement pour certains *Aspergillus* spp., d'autres sont considérés comme étant mitosporique sans aucune production de spores sexuelles.

Le milieu PDA est idéal pour l'identification ; incubé à 25° C, la majorité des espèces sporulent à 7 jours. La morphologie microscopique à la base est la même pour toutes les espèces. Cependant, certaines structures microscopiques sont uniques à certaines espèces et constituent la caractéristique clé pour l'identification des espèces ainsi que la couleur de la surface de la colonie.

La caractéristique majeure dans l'identification des espèces est la vitesse de croissance, la couleur de la colonie et la thermo-tolérance. La couleur de la surface peut varier dépendamment des espèces tandis que le revers est incolore à jaune dans la majorité des isolats (Tableau 3).

IV.11. *Levures*

Les levures font partie des champignons unicellulaires et sont très répandues dans les écosystèmes naturels. Elles sont classées sous le phylum des *Basidiomycota* ou *Ascomycota*, se reproduisent par bourgeonnement ou par fission et leur stade sexuel ne nécessite pas la formation de corps de fructification. En plus de l'existence d'une phase sexuelle, les caractéristiques morphologiques, biochimiques et génétiques des levures rentrent également en compte dans les critères de classification.

Ce sont des microorganismes non photosynthétiques qui sont capables d'utiliser des sources très diverses de carbone (Walker, 1998). Les colonies de levures sont crémeuses, de couleur jaunâtre, poussent rapidement et atteignent la maturité en 3 jours. La texture de la colonie peut être pâteuse, lisse, scintillante ou asséchée, plissée et terne, dépendamment de l'espèce.

Tableau 3: The color of the colony in various *Aspergillus* species

SPECIES	SURFACE	REVERSE
<i>A. clavatus</i>	Blue-green	White, brownish with age
<i>A. flavus</i>	Yellow-green	Goldish to red brown
<i>A. fumigatus</i>	Blue-green to gray	White to tan
<i>A. glaucus</i> group	Green with yellow areas	Yellowish to brown
<i>A. nidulans</i>	Green, buff to yellow	Purplish red to olive
<i>A. niger</i>	Black	White to yellow
<i>A. terreus</i>	Cinnamon to brown	White to brown
<i>A. versicolor</i>	White at the beginning, turns to yellow, tan, pale green or pink	White to yellow or purplish red

Source : www.doctorfungus.org

V. Le contrôle de la pourriture de couronne des bananes

V.1. Réaction de l'hôte

Les bananes dessert commercialisées sont produites sous le cultivar du génome (AAA) qui est susceptible tandis que ce problème est rare, presque inexistant chez les fruits du cultivar du sous-groupe de plantains (AAB). Dans le sous-groupe de « Cavendish » (AAA), « Robusta » et « Valéry » se sont révélés plus susceptibles à l'infection naturelle à la pourriture de couronne que « Lacatan » (Shillingford, 1977).

Il a été suggéré que les fruits de « FHIA-1 » (AAAB, syn. Goldfinger) et de « FHIA-2 » du programme génétique du Honduras sont partiellement résistants aux champignons de la pourriture de couronne (Marin *et al.*, 1992).

V.2. Lutte prophylactique

La prévention de l'infection se fait aussi bien en champ qu'en station de conditionnement.

a.) Au champ

La quantité d'inoculum présente dans l'environnement est dite capable d'affecter le niveau de pourriture de couronne. Il est maintenant commun dans les plantations d'enlever les feuilles sénescentes et les bractées de la plante afin de maintenir l'environnement immédiat des fruits sain.

Il a été démontré par des études sur l'anthracnose que l'ablation des pièces florales (épistillage) et des bractées inférieures, reconnues comme les principales sources d'inoculum de *C. musae* pour la pollution des fruits, diminue à la fois la quantité d'inoculum incident sur les régimes, mais aussi le niveau de contamination des fruits (de Lapeyre De Bellaire *et al.*, 2000).

Le développement de pourriture semble être plus important dans les plantations mal entretenues. Le gainage des régimes, à l'aide d'un film plastique perforé, permet de réduire de plus de 80 % les niveaux de contamination des fruits par *C. musae* ; d'où la recommandation de l'engainage précoce des régimes, avant le stade « doigts horizontaux » par Mouen Bedimo *et al.*, (2003).

Le gainage couplée à l'ablation de fleurs et de bractées a permis une réduction satisfaisante de la quantité d'inoculum déposée sur les fruits (de Lapeyre de Bellaire *et al.*, 2000).

b.) En station de conditionnement

La découpe des mains de banane en bouquets à la station de conditionnement est une opération délicate car elle constitue la principale voie d'infection des pathogènes responsables des pourritures de couronnes (Lukezic *et al.*, 1967 ; Finlay *et al.*, 1992).

La station d'emballage et ses alentours doivent être débarrassés de déchets tels que les hampes, les fruits mis de côté, les restes floraux, ... qui peuvent contaminer l'air ambiant de la station (Finlay *et al.*, 1992). La découpe des bouquets dans un environnement propre plutôt qu'au champ sans laver les fruits peut réduire de 50% les niveaux de contamination des fruits

(Finlay *et al.*, 1992). La propreté des fruits et du couteau de découpe est importante dans la mesure où ils peuvent être des vecteurs de la maladie. La réduction de l'inoculum dans les champs et dans les stations d'emballage doit être considérée comme la toute première étape dans le contrôle de la pourriture de couronne.

La découpe des couronnes nettes est nécessaire. Il est ainsi recommandé de la réaliser à l'aide d'un couteau bien affûté. Une découpe grossière des couronnes, voire un arrachage à la main de ces dernières, augmente de manière significative les niveaux de contamination des fruits (Finlay *et al.*, 1992). Les fragments de tissu en surface des couronnes se déshydratent immédiatement et entrent rapidement en sénescence, produisant ainsi des conditions favorables à l'installation des champignons responsables de la pourriture de couronnes (Finlay & Brown, 1993). Il est en outre important de découper des couronnes larges, ayant dans la mesure du possible, la plus grande quantité de tissu du coussinet. Il semble en effet que ce type de couronne soit plus résistant aux pourritures et qu'il conduise rarement à une propagation des nécroses dans les pédicelles et aux doigts des fruits avant la vente et la consommation (Muirhead & Jones, 2000).

La qualité des eaux des bacs de lavage dans lesquels les couronnes fraîchement découpées sont plongées est essentielle. Cette eau est susceptible de contenir une grande quantité de spores détachées de la surface des fruits et provenant de déchets végétaux ; elle doit être permanemment renouvelée. L'eau des bacs de lavage est traitée avec des désinfectants tels que le chlore (Slabaugh & Grove, 1982 ; Eckert & Ogawa, 1985) et les ammoniums quaternaires (Shillingford, 1977) pour laver et enlever le latex. C'est une procédure saine et recommandée mais qui peut être limitée en pratique. La chloration légère des eaux réalisée à la station d'emballage est bénéfique à condition que les fruits soient immergés suffisamment longtemps. Il est difficile de maintenir la concentration en chlore efficace nécessaire à une bonne activité fongistatique (Slabaugh & Grove, 1982 ; Eckert & Ogawa, 1985). La concentration en chlore est régulièrement ajustée du fait d'importantes pertes par volatilisation ou par des réactions d'oxydo-réduction avec le latex ou d'autres composés organiques des bacs de lavage. L'étude du pouvoir fongistatique du chlore utilisé dans le traitement des eaux de station au Honduras a permis d'observer que les conidies de *Cephalosporium* sp., *Fusarium roseum*, *Gloeosporium musarum* et *Verticilium theobromae* sont moins résistantes au chlore que celle de *Botriodiplodia theobromae* et *Deighoniella torulosa* (Arneson, 1971). Les conidies de *C. musae* sont rarement rencontrées dans les eaux des bacs de lavage tandis que les *Fusarium* et les *Verticilium* y sont présents en grande quantité (Shillingford, 1977). Après 3 minutes dans des eaux contaminées, les spores peuvent pénétrer les tissus de la couronne jusqu'à une profondeur de 5 à 7mm (Greene & Goos, 1963).

V.3. Lutte chimique

L'utilisation régulière des fongicides systémiques est nécessaire en traitement post-récolte. Les principales matières actives utilisées au Cameroun sont le thiabendazole (Mertect® ou le Tecto®), le bitertanol (Baycor®) et l'imazalil (Sulima®) ; ces fongicides ont des modes d'action différents. Ainsi le thiabendazole (classe des benzimidazoles, famille des carbamates) est un inhibiteur de la synthèse des microtubules (antimitotique) tandis que le bitertanol (classe des triazoles, famille des hétérocycles) et l'imazalil (classe des imidazoles, famille des hétérocycles) sont des inhibiteurs de la biosynthèse des stérols de la classe I (ergostérol). Ils sont appliqués seuls ou en association, par trempage, par pulvérisation ou par badigeonnage des couronnes à l'aide d'un pinceau.

L'alun est fréquemment associé aux bouillies fongicides pour neutraliser les résidus de latex persistant sur les couronnes à la sortie des bacs de lavage. Ces fongicides systémiques ne pénètrent pas très loin dans le fruit, mais leur effet est suffisant pour contrôler la pourriture de couronne (Muirhead & Jones, 2000). Il est essentiel de bien mouiller des fruits pour assurer l'efficacité des traitements fongicides. Cette efficacité des fongicides varie fortement en fonction des périodes de l'année et des parcelles (Chillet & de Lapeyre de Bellaire, 1996). Le temps séparant la découpe des couronnes et l'application du traitement fongicide est critique. La sévérité des pourritures de couronne semble en effet être d'autant plus forte que les couronnes restent longtemps sans protection (Greene & Goos, 1963).

Les produits utilisés en traitement aérien contre la cercosporiose du bananier comme le bénomyl ont conduit au développement de résistances croisées chez des souches de *C. musae*. On a ainsi eu l'apparition de souches résistantes à certaines matières actives lors de l'emploi du thiabendazole en post-récolte (Griffie & Burden, 1976 ; de Lapeyre de Bellaire & Dubois, 1997).

V.4. Lutte physique

La température, l'humidité relative et la composition de l'atmosphère peuvent influencer le développement des maladies de conservation en agissant directement sur la biologie des pathogènes, ou indirecte en ralentissant le métabolisme des fruits et donc de la durée de vie verte des bananes.

La durée de vie verte correspondant au temps écoulé entre la coupe du fruit et le début de la phase climactérique ; elle semble déterminante dans le développement des maladies de conservation puisqu'une relation étroite existe entre le degré de maturité des fruits et leur sensibilité à ces maladies (Muirhead & Jones, 2000).

Les containers servant au transport maritime des fruits ont une température comprise entre 13-14° C.

Le niveau d'humidité relative est importante dans la mesure où une hygrométrie élevée entretient la turgescence des tissus de la couronne limitant ainsi l'effet de la transpiration.

La composition de l'atmosphère des cales au cours de la période de transit est importante. On parle donc d'atmosphère modifiée ou d'atmosphère contrôlée.

V.5. Lutte génétique

La lutte génétique est limitée par une base génétique très étroite des variétés commerciales de bananier ainsi que par la mise en œuvre de schémas d'amélioration complexes en raison de la stérilité de ces variétés triploïdes (Bastiaanse, 2006). L'amélioration génétique des bananiers est essentiellement axée sur la création de variétés résistantes aux cercosporioses et à la maladie de Panama (Swennen & Vuylsteke, 2001 ; Bakry *et al.*, 1997). Ainsi, peu de données sont disponibles concernant la résistance des fruits issus de ces bananiers aux maladies de conservation. Il semble possible que ces clones soient résistants à la pourriture de couronne (Muirhead & Jones, 2000) et à l'anthracnose (Martoredjo, 1995).

V.6. Autres méthodes alternatives de lutte

Les méthodes alternatives de contrôle des maladies post-récolte sont permanemment étudiées.

L'eau chaude utilisée à une température proche de 50° C entraîne un noircissement de la peau des bananes. Une immersion des bananes dans de l'eau chaude à une température de 45 à 47,5 ° C pendant 15 à 30 minutes est un excellent moyen de contrôle de la croissance des conidies de *Fusarium proliferatum* et de *Colletotrichum musae* (Burden, 1968 ; López-Cabrera & Marrero-Domínguez, 1998). Un traitement de 20 minutes à des températures inférieures à 45° C a permis un contrôle efficace de *Chalara paradoxa* et le passage de la proportion des fruits contaminés de 100 % à moins de 15 % (Reyes *et al.*, 1998). Cela n'a cependant pas abouti à une application commerciale contrairement à ce qui est réalisé dans certaines zones de production pour la papaye et la mangue (de Lapeyre de Bellaire, 1999).

L'irradiation gamma durant 38 minutes à la dose de 4000 Gy sur les fragments de fruits inhibe la formation d'appressoria de *C. musae* et tout développement fongique à la surface de ces fragments (Kanapathipillai *et al.*, 1987). Ces doses sont cependant très élevées et causent des dommages à la physiologie des fruits ; au-delà de la dose de 500 Gy, on observe des altérations de la peau (Wills *et al.*, 1998). La « dose-seuil » d'altération de la peau est inférieure à celle du contrôle de la maladie (Joas, 1997). D'où l'éloignement de la perspective d'utilisation des rayons gamma pour le contrôle post-récolte des pourritures de couronne.

Une cire à base d'esters de saccharose combinée à des celluloses ou à des acides gras, a été également appliquée sur les bananes (Al Zaemey *et al.*, 1993). L'effet dépressif sur la croissance de *C. musae* peut être en partie dû à un effet fongistatique direct des cires mais semble avant tout intervenir d'une manière indirecte, en jouant sur la physiologie des fruits (Krauss & Johanson, 2000). Un contrôle total de la maladie ne peut être obtenu par l'enrobage seul ; l'addition d'acides organiques à ces revêtements ou l'utilisation complémentaire de fongicides pourraient contribuer à réduire les doses de matières actives appliquées (Al Zaemey *et al.*, 1993).

L'application de substances naturelles (huiles essentielles) sur le développement des pourritures de couronne ou des lésions d'anthracnose a également été évaluée. Des propriétés antifongiques ont été observées pour les extraits d'ail (*Allium sativum*), de citrus, ainsi que pour des solutions à base de propolis (gomme produite par les abeilles) (Krauss & Johanson, 2000). Il en est de même pour les huiles essentielles de cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*) et de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) ; cependant, des cas de phytotoxicité ont été rapportés (Ranasinghe *et al.*, 2002 ; 2005).

D'autres recherches sont axées sur l'utilisation de microorganismes pour le contrôle des pourritures de couronne du fait des risques phytosanitaires encourus par les consommateurs et le personnel employé pour les traitements chimiques. Les recherches se sont orientées vers des technologies plus respectueuses de la santé humaine et de l'environnement. Le contrôle de la maladie se fait au moyen d'agents de contrôle biologique comme des levures (Demoulin, 2004 ; Anselmo, 2005 ; Bastiaanse, 2006), des bactéries et des champignons. Ceci a d'ailleurs favorisé la multiplication d'études sur les interactions antagonistes (Postmaster *et al.*, 1997 ; Raggazi & Turco, 1997 ; de Costa & Subasinghe, 1998 ; Krauss *et al.*, 2001) ou synergiques possibles entre ces différents microorganismes.

La lutte biologique pour la protection des plantes s'est le plus souvent avérée moins satisfaisante que la lutte chimique. Cependant, la protection des fruits contre les maladies de conservation, constitue un domaine où les limites de cette lutte peuvent être surmontées plus facilement, et ce pour plusieurs raisons (Muirhead & Jones, 2000). Contrairement à une application au champ, les conditions environnementales (température, humidité relative,

composition de l'atmosphère) sont définies et stables au cours du stockage et la protection doit être assurée pendant une période relativement courte. Le site d'application du bio-pesticide est de plus limité au fruit, les zones à traiter peuvent être ainsi très ciblées avec un minimum de pertes de produits appliqués. La haute valeur ajoutée des fruits enfin permet de supporter les coûts parfois élevés d'un traitement biologique (Bastiaanse, 2006).

VI. La diversité des agents pathogènes

Les maladies dues aux microorganismes phytopathogènes possèdent toutes un agent responsable, une écologie particulière, un environnement favorable et un parcours biologique, qui conditionne leur apparition, voire leur expression au sein des plantes hôtes.

L'agressivité des champignons phytopathogènes est un caractère complexe, quantifiable impliqué dans les interactions hôte-pathogènes. L'étude du support héréditaire et de l'évolution de ce caractère nécessite le phénotypage en conditions contrôlées d'individus issus de populations naturelles. Cependant, le nombre important de paramètres à mesurer et la grande variabilité des mesures limitent les analyses.

VI.1. Marqueur du pouvoir pathogène

Ce sont des molécules de nature diverses dont la teneur augmente au cours de l'infection. L'étude du pouvoir pathogène des espèces, concernent l'étude des mécanismes de régulation des principales exotoxines ainsi que l'identification et la caractérisation de nouveaux facteurs de virulence pouvant être impliqués dans la pathogénie de ces microorganismes.

Les pathogènes sont à l'origine de différentes affections chez les plantes notamment le bananier. Il est donc important de constituer de différents groupes sur la base de caractères morphologiques, biochimiques et génétiques.

Les affections liées à ces différentes espèces n'ont pas la même incidence sur la pourriture de couronne. L'incidence pathologique de ces espèces est mal élucidée à ce jour. Le diagnostic des infections est principalement basé sur l'isolement des pathogènes en culture, leur caractérisation morphologique puis leur caractérisation moléculaire.

VI.2. Caractérisation des microorganismes

(Garand, 1996)

Elle peut se faire par des méthodes classiques et/ou des méthodes moléculaires. Les méthodes classiques ou traditionnelles regroupent les techniques de détection morphologique et biochimique.

La détection morphologique se fait par :

- Le dépistage visuel qui est efficace au champ mais pas sur les fruits en post-récolte où l'apparition des symptômes se fait souvent tardivement pour lutter contre la maladie,

- l'observation microscopique des caractéristiques morphologiques et physiologiques à partir d'isolat du pathogène,
- l'utilisation des clés de détermination.

L'évaluation des caractères morphologiques peut conduire à des erreurs d'identification ou à des identifications imprécises du fait de leur variabilité en fonction et de l'environnement et des milieux de culture employés.

La détection par les méthodes biochimiques se fait par :

- l'identification du profil électrophorétique des protéines solubles et des isoenzymes qui permettent de distinguer les pathogènes,
- les techniques immunologiques de type ELISA qui ciblent les antigènes de surface cellulaire.

Ces méthodes permettent une identification au niveau de l'espèce même s'il peut survenir des chevauchements importants lorsque deux espèces sont très proches. La culture est préalable à l'identification qui se fait à partir des cultures pures. Elles sont longues et fastidieuses pour des résultats équivoques du fait du manque de spécificité et de fiabilité. D'où la nécessité d'une caractérisation moléculaire dans certains cas pour confirmer un diagnostic à partir des méthodes traditionnelles.

De nouvelles techniques de détection ont été développées avec les outils moléculaires. Il s'agit de :

- l'établissement du caryotype qui requiert un isolement préalable du pathogène,
- les empreintes génétiques de l'ADN génomique à l'aide d'analyse RFLP qui permettent la distinction des espèces et nécessitent l'isolement du pathogène,
- l'emploi de sondes moléculaires chaudes ou froides qui est souvent exclusif soit au genre ou à une espèce particulière et ne nécessite pas l'isolement du pathogène,
- l'amplification enzymatique des acides nucléiques (ADN) *in vitro* par la réaction de polymérisation en chaîne qui est une des techniques récentes et permet une grande sensibilité et spécificité pour la détermination des pathogènes.

a). ADN ribosomique

Les acides nucléiques ont été isolés initialement des noyaux des cellules. On peut en distinguer deux grands types: les acides désoxyribonucléiques et les acides ribonucléiques. Les premiers sont essentiellement localisés dans le noyau des cellules et les seconds dans le cytoplasme cellulaire. Les acides nucléiques (ADN et ARN) sont des macromolécules et comportent des sous-unités appelées nucléotides. Un nucléotide comporte trois composants qui sont l'acide phosphorique, un ose et une base.

L'ADN est constitué d'un ose, de bases et de chaînes de nucléotides. L'ose est le 2'-désoxyribose (remplacé par le ribose dans les ARN). Les bases sont classées en bases pyrimidiques et en bases puriques. Les bases pyrimidiques sont l'uracile (U), la cytosine (C) et la thymine (C) tandis que les bases puriques sont l'adénine (A) et la guanine (G).

Les chaînes d'ADN sont antiparallèles, complémentaires et hélicoïdales.

- **Antiparallèles:** Les deux brins d'une molécule d'ADN sont disposés dans des directions opposées. Un brin est orienté dans une direction 5'→3', et le second brin sera parallèle au premier et dans la direction inverse 3'→5'.

- **Complémentaires:** L'appariement des bases des deux brins d'une molécule d'ADN se fait suivant la règle de complémentarité: A apparié avec T, C apparié avec G.

- **Hélicoïdales:** Dans l'espace les deux chaînes présentent une configuration hélicoïdale. Elles s'enroulent autour d'un axe imaginaire pour constituer une double hélice.

L'ADNr est généralement organisé de la même façon chez l'ensemble des cellules eucaryotes. Les ribosomes sont plus gros (80 S) avec également une structure à deux sous-unités (40 S et 60 S). L'unité majeure de l'ADNr (sous-unité 60 S) contient trois gènes différents répétés en tandem plusieurs fois sur le même chromosome (5 S, 5,8 S et 28 S) et la petite sous-unité (40 S) ne contient qu'un seul gène (18 S). La sous-unité 18S est séparée de la 5,8S par l'ITS1, et celle-ci est séparée de la 28S par l'ITS2 (Figure 9).

b). La PCR

(Borde, 2006)

La réaction de polymérisation en chaîne permet d'amplifier *in vitro* une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier. Pour se faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle (Figure 10).

Ainsi, au cours de la réaction PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle. Pour avoir réplication d'un ADN double brin, il faut agir en trois étapes.

(1) Il faut dénaturer l'ADN pour obtenir des matrices simple brin ;

(2) borner et amorcer la réplication de la séquence à amplifier à l'aide d'oligonucléotides amorces spécifiques ;

(3) réaliser la réaction de polymérisation du brin complémentaire. A la fin de chaque cycle, les produits sont sous forme d'ADN double brin.

Les trois étapes, constituant un cycle de PCR, sont effectuées à des températures différentes permettant de contrôler l'activité enzymatique. Pour effectuer ces transitions de températures, les micro-tubes contenant le mélange réactionnel sont placés dans un appareil programmable : un thermocycleur.

Cet appareil permet d'exposer les tubes à des températures choisies et pour des durées déterminées par l'expérimentateur. La réaction PCR est extrêmement rapide et ne dure que quelques heures (2 à 3 heures pour une PCR de 30 cycles).

Dans la mise au point de la réaction PCR, le choix des amorces est crucial. Elles vont avoir un double rôle : en s'hybridant à l'ADN matrice, elles délimitent la région d'ADN à amplifier (étape 2 du cycle) et avec leur extrémité 3' OH libre servir d'amorce pour l'ADN polymérase (étape 3 du cycle).

Les trois étapes, constituant un cycle de PCR, sont effectuées à des températures différentes permettant de contrôler l'activité enzymatique:

- l'étape de **dénaturation**, est réalisée à environ 95° C, pour une dissociation complète des deux brins d'ADN.
- l'étape d'**hybridation** se fait à une température qui sera définie selon la nature des amorces (cette température varie de 50 à 60° C). Cette température va déterminer la stabilité des hybrides une fois que l'appariement amorces/matrice est réalisé.
- l'étape de **polymérisation** est à environ 72° C, température de « travail » de l'ADN polymérase thermorésistante utilisée. Au cours de cette étape, les brins complémentaires d'ADN sont synthétisés à partir des extrémités 3'OH libre des amorces hybridées.

Les températures de dénaturation et de polymérisation sont fixes, seule la température d'hybridation devra être calculée pour chaque nouvelle PCR. Cette température d'hybridation dépend de la composition en bases des oligonucléotides amorces.

Cette technique de PCR a littéralement révolutionné les recherches en biologie moléculaire et trouve de nombreuses applications aussi bien dans le clonage et l'étude de l'expression des gènes que dans la recherche du polymorphisme génétique (Tagu & Moussard, 2003).

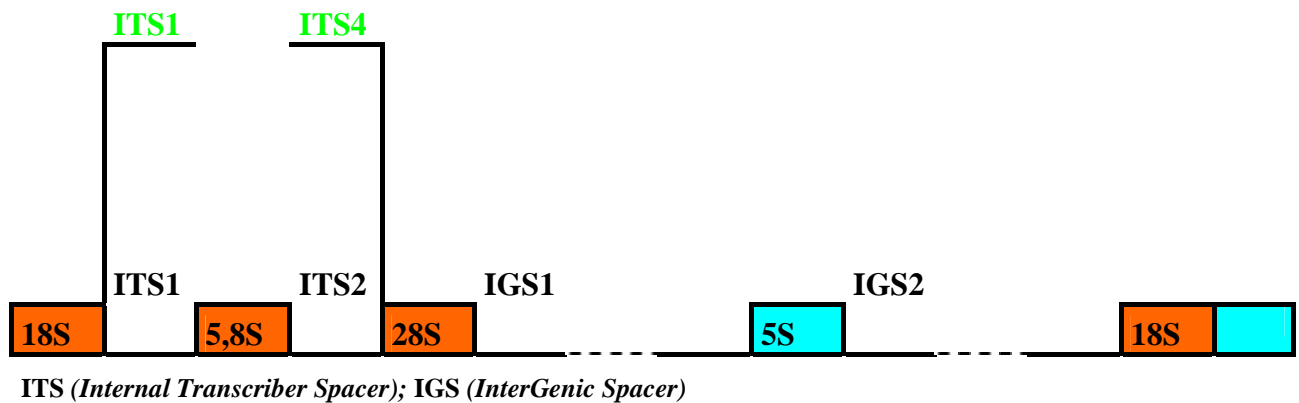


Figure 9 : Structure d'un fragment d'ADN ribosomique amplifié [ITS1 et ITS4 correspondent aux sites de fixation des amorces servant à l'amplification des fragments désirés (White *et al.*, 1990). 5S, 18S, 5.8S et 28S sont très conservées, les IGS peu conservées tandis que les ITS sont moins conservées et évoluent rapidement]

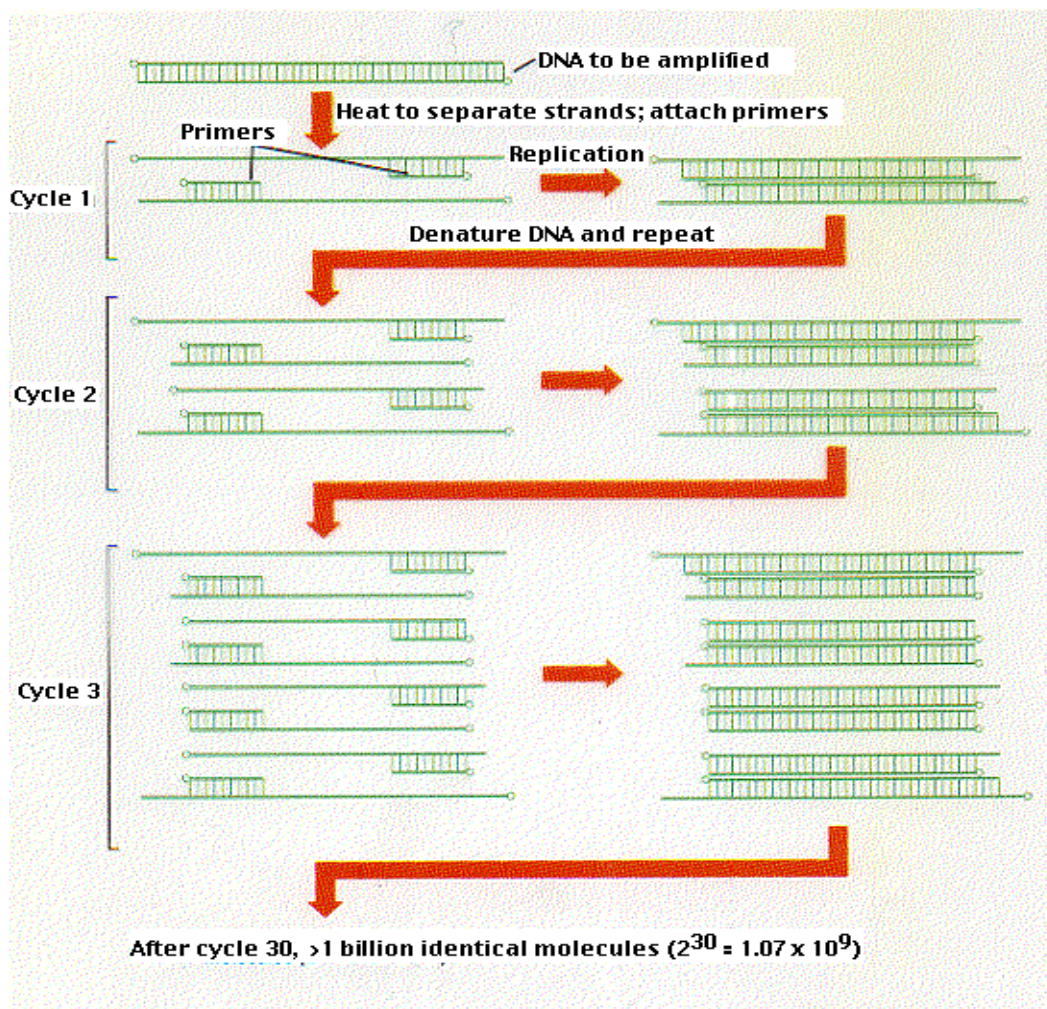


Figure 10: Principe de la PCR (Durant & Frezet, 2003)

CHAPITRE II : OBJECTIFS DE L'ETUDE

La pourriture de couronne est une infection complexe qui résulte de l'activité de plusieurs pathogènes (Lukezic *et al.*, 1967). Les champignons pénètrent les fruits en plantation ou directement dans les tissus par les voies ouvertes lors de la découpe des mains de bananes en bouquets à la station d'emballage. Les bananes sont lavées dans les eaux de dépaquetage et de lavage qui sont de potentielles sources d'inoculum.

La nature du complexe et la gravité des dégâts dus aux microorganismes du complexe parasitaire responsable des pourritures de couronne des bananes varient en fonction des régions et des périodes de l'année (Slabaugh & Grove, 1982 ; Hostachy *et al.*, 1990 ; Mérédith, 1971) et des couronnes elles mêmes (Lukezic *et al.*, 1967).

A titre d'exemple les espèces fréquemment isolées au Nigeria sont *Botriodiplodia theobromae* et *Colletotrichum musae* (Ogundero ; 1987) tandis qu'en Amérique latine, *Cephalosporium sp.*, *Verticillium theobromae*, *Fusarium roseum*, *Gloeosporium musarum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium semitectum* et *penicillium spp.* sont fréquemment isolés (Greene et Goos, 1963 ; Lukezic *et al.* ; 1967 ; Marin *et al.* ; 1996).

Aucune donnée n'est actuellement disponible sur la composition parasitaire de cette maladie dans les conditions du Cameroun.

Cette étude réalisée en collaboration avec la FUSAGx, le CIRAD et le CARBAP a pour objectif général d'étudier la variation du complexe parasitaire (nature et pouvoir pathogène) dans les eaux des bacs de lavage des bananes (eaux de dépaquetage et de lavage) en station de conditionnement en fonction des zones de production du Cameroun.

- La première partie de ce travail est axée sur une analyse microbiologique de l'eau des bacs de lavage en station d'emballage. Elle repose sur quatre volets :
 - Le premier volet porte sur l'isolement des microorganismes des eaux de dépaquetage et de lavage des stations d'emballage de Dia-dia et de Tiko.
 - Le second volet porte sur une caractérisation morphologique des isolats à l'aide d'une clé de détermination.
 - Le troisième volet porte sur une caractérisation moléculaire des différents types de pathogènes isolés (extraction d'ADN, PCR sur la zone ITS, séquençage de la zone ITS, comparaison des séquences avec celles publiées).
 - Le quatrième volet porte sur la détermination de la composition du complexe parasitaire responsable des pourritures de couronnes dans le cas du Cameroun. La composition de ce complexe n'est pas connue dans notre contexte.
- La seconde partie de ce travail consiste en une évaluation du pouvoir pathogène des eaux de dépaquetage des bananes pour les deux stations d'emballage considérées.
- La troisième partie de ce travail porte sur une évaluation du pouvoir pathogène des espèces le plus fréquemment isolées des eaux de dépaquetage et de lavage des stations d'emballage de Dia-dia et de Tiko.

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

1. Lieux de l'essai

Les essais portent sur deux stations situées dans les deux principales zones de production de la banane destinées à l'exportation au Cameroun :

- Tiko (PHP) à 30m d'altitude dans la province du Sud-ouest ;
- Dia-dia (PHP) à 80m d'altitude du côté de Njombé dans la province du littoral.

Ces deux stations présentent des différences qualitatives et quantitatives de la composition des microorganismes des eaux de lavage des bananes (Demoulin, 2004).

De plus ces stations ont des modes de traitement des eaux de dépattage et de lavage différents. Les eaux de Dia-dia sont recyclées et rejetées au bout de trois semaines tandis que celles de Tiko sont rejetées dans la nature en fin de journée.

2. Matériel végétal

La contamination naturelle des fruits dépend des paramètres climatiques : elle augmente en saison pluvieuse, dans les zones où les températures sont les plus proches de 30° C. Elle dépend aussi de paramètres culturaux (gainage, épistillage au champ).

Pour ces essais réalisés au moyen d'inoculation artificielle, des fruits très sensibles et peu contaminés ont été recherchés ; les fruits ont été prélevés dans une zone de plus forte sensibilité (zone de Dia-dia), sur des régimes gainés à la floraison et épistillés au champ. Il a été observé que les fruits de Dia-dia sont plus sensibles aux pourritures de couronnes (Demoulin, 2004)

Des fruits de la variété Grande Naine (*Musa acuminata*, sous groupe Cavendish), sensible, ont été utilisés. Les bananes ont été récoltées à l'intervalle fleur-coupe (IFC) de 900° C jour au seuil de 14° C afin d'homogénéiser le stade physiologique à la récolte.

3. Méthode de prélèvement et de préparation des eaux de dépattage et de lavage

Les eaux de dépattage contiennent les mains de bananes prélevées des régimes tandis que les eaux de lavage contiennent les bouquets formés de quatre à huit doigts de bananes (Figure 11). Chaque semaine, les eaux ont été prélevées en surface dans des flacons stériles.

Un échantillon d'eau de 100 ml a été prélevé dans les bacs de lavage et de dépattage de chaque station et analysé au laboratoire selon le processus suivant.

- Filtration sur gaze stérile.
- Filtration de 43 ml sur tamis stérile de 35 µm.
- Echantillonnage de 1 ml pour dilution au 1/10^{ème}.
- Echantillonnage de 2 ml pour étalement direct.
- Centrifugation des 40 ml restant (4000 tr/min pendant 10 min) et reprise du culot dans 4 ml d'eau stérile (concentration 10 X).
- L'échantillonnage suivant a pu être constitué :



Eau de dépattage (ED)



Eau de lavage (EL)

Figure 11 : Eaux de dépattage et de lavage des bananes en station d’emballage.

1. Eau non centrifugé (NC)
2. Eau non centrifugé dilué 1/10 (NC -1)
3. Eau concentré 10 X par centrifugation (C).

4. Protocole d'inoculation des bananes

Le protocole a été mis au point, testé et validé par le CIRAD-FLHOR dans le cadre du programme qualité de la banane post-récolte. Les couronnes de bananes ont été inoculées artificiellement et ont subi les conditions imitant l'exportation industrielle.

4.1. Préparation de l'inoculum

a). Pour les pathogènes sur boîte de pétri

La souche Co-CMR-65 de *Colletotrichum musae* utilisée comme témoin pour l'ensemble des essais est conservée dans la collection du CARBAP à -20°C dans une solution de glycérol (30%). Cette souche est pathogène et sensible au thiabendazole. De manière à éviter les dérives génétiques, les cultures de *C. musae* sont initiées 15 jours avant l'inoculation à partir des cryotubes maintenus en congélation. Dans un premier temps, 100 μl du cryotube sont étalés en boîte de Pétri sur milieu Mathur modifié (Annexe 1) et conservés à 25°C durant 3 à 5 jours. Par la suite, la souche est repiquée et elle est à nouveau incubée à 25°C durant 7 à 10 jours. L'inoculation des fruits est réalisée à partir d'une suspension de conidies issues de cette culture. La culture est préalablement mise en suspension dans 10ml d'eau puis raclée à l'aide d'un étaleur coudé afin de décrocher les spores. La suspension est ensuite passée sur un tamis stérile de 45 μm et ajustée par des dilutions successives à 10^4 conidies/ml après comptage à l'aide d'une cellule de Mallassez.

Pour les pathogènes fréquemment isolés des eaux des stations, l'inoculum obtenu à partir des isolats mis en culture pure sur milieu PDA a été préparé de la même manière et à la même concentration que pour *Colletotrichum musae*.

b). Pour les eaux de lavage

Les eaux de dépaillage seules ont été utilisées pour l'inoculation des couronnes de bananes :

1. Eau non centrifugé (NC)
2. Eau concentré 10 X par centrifugation (C).

4.2. Préparation des couronnes

Les mains de bananes ont été récupérées le jour même de l'expérimentation au niveau de la penderie de la station d'emballage de Dia-dia. Les secondes et troisièmes mains des régimes ont été prélevées selon l'échantillonnage prévu et ramenées au laboratoire.

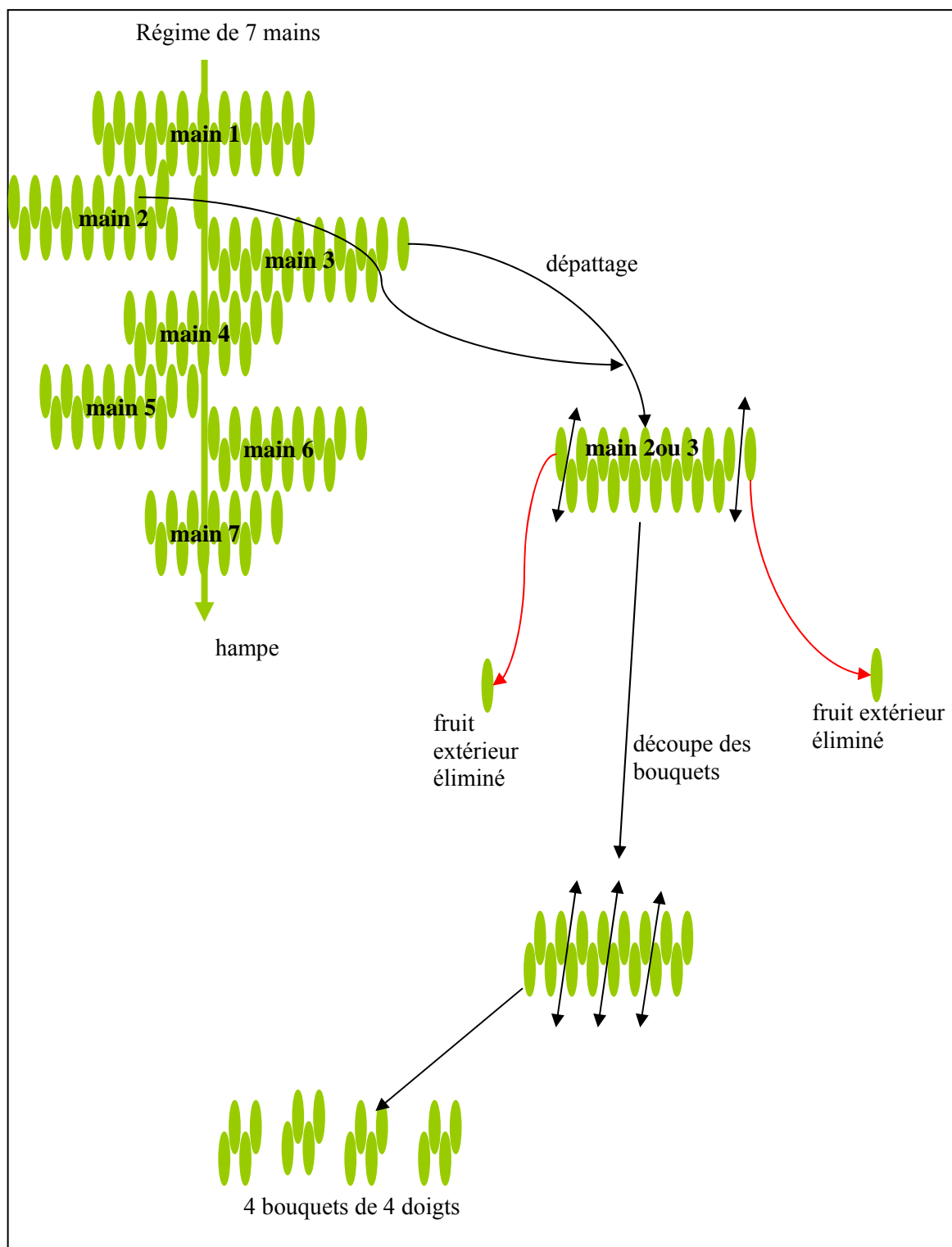


Figure 12 : schéma de découpe des régimes de bananes en bouquets de 4 fruits.

Elles ont été découpées en bouquets de 4 doigts sans défaut. Les doigts des extrémités des mains ont été systématiquement éliminés. Chaque bouquet a alors été marqué selon son régime d'origine et sa modalité de destination (Figure 12).

Les bouquets ont été laissés à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre l'écoulement du latex. Une fois le latex écoulé, les couronnes ont été nettoyées, puis stérilisées par trempage dans de l'alcool à 90° dilué à 50%. Les couronnes ont été séchées pendant 2 heures à température ambiante avant d'être inoculées.

4.3. Inoculation des couronnes

Une fois les couronnes sèches, elles ont été inoculées avec la suspension de chacun des pathogènes ou de l'eau de lavage préparée au point **4.1**. Cette inoculation a été réalisée par dépôt d'une gouttelette de 50 µl d'une suspension calibrée à 10^4 conidies/ml ou du type d'eau concerné au sommet de la couronne (Figure 13.a). La suspension a été agitée après chaque dépôt. Un carré de papier filtre stérilisé a été déposée sur la gouttelette (Figure 13.b) afin d'éviter son écoulement et de maintenir l'inoculum sur la couronne.

4.4. Simulation du programme d'exportation

Environ 2 heures après l'inoculation, les fruits sont emballés dans des sacs de polyéthylène perforés, et sont rassemblés par répétition dans des cartons identiques à ceux utilisés pour l'exportation. De manière à simuler le transport en bateau, les cartons sont stockés en chambre frigorifique de 13° C durant 13 jours.

4.5. Evaluation de la progression interne de la nécrose

Le bouquet de 4 doigts de banane a été séparé en deux parties de deux doigts chacune. Cette découpe transversale de la couronne permet une évaluation de la progression des nécroses en son sein. La « Surface de Nécrose Interne » de la couronne exprimée en mm² a été mesurée (Figure 13.e, f).

5. Analyse statistique

Les moyennes et écart-types des SNI mesurés sur l'ensemble des bouquets sont soumis au logiciel MINITAB 13 pour une analyse de la variance à 3 critères de classification, partiellement hiérarchisée et mixte. Lorsque des différences significatives sont détectées entre les modalités, une structuration des moyennes par le test de simultanéité de Tukey est réalisée au seuil de 5% avec une comparaison 2 à 2 entre niveaux de traitement afin de déceler plus précisément les différences d'efficacité entre les traitements.



a.) Gouttelette d'inoculum sur la couronne



b.) Pastille de papier sur la gouttelette



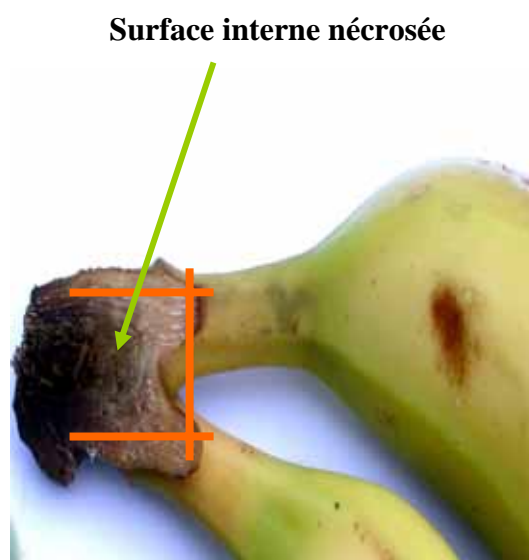
c.) Mûrs d'arrivage



d.) Bouquets en sortie murisserie



e.) Section du bouquet en deux parties



f.) Mesure de la surface nécrosée

Figure 13: Simulation du programme d'exportation et mesure des nécroses internes

6. Essais réalisés

6.1. Analyse microbiologique de l'eau de la station d'emballage

6.1.1. Isolement des pathogènes

Les microorganismes ont été isolés des eaux de lavage (EL) et de dépaillage (ED) des stations de conditionnement pendant 9 semaines. Cette période correspond à la fin de la saison sèche qui est suivie de la saison de pluies.

Le milieu d'isolement est du milieu Mathur (Mg SO₄ · 7H₂O 2,5g ; KH₂PO₄ 2,7g ; Peptone 1g, Extrait de levure 1g ; Saccharose 10g ; Agar 15g ; Rifampicine 100mg) pH 6,8.

Un étalement de 100 µl d'eau/boîte dans les 10 séries de boîtes pour chacune des solutions suivantes a été réalisé :

- a. Echantillon d'eau non centrifugé (NC)
- b. Echantillon d'eau non centrifugé dilué 1/10 (NC -1)
- c. Echantillon d'eau concentré 10 X par centrifugation (C).

Les boîtes ont été mises en incubation à environ 20° C pendant 3 jours à l'obscurité puis, les colonies des différents microorganismes ont été identifiées au microscope et dénombrées à partir de la série de boîte dont la concentration permettait une meilleure lecture (20 à 100 colonies par boîte).

Les lectures ont été faites sur les dix boîtes d'un seul des échantillons. Elles ont été effectuées à partir du troisième jour tous les 2 jours (J3, J5, J7) du fait de la différence de vitesse de croissance entre les espèces (Figure 14). Après avoir identifié les espèces, les quantités de colonies dénombrées ont été ramenées à la concentration initiale de la solution de départ pour pouvoir les quantifier en nombre de spores/ml d'eau de dépaillage et de lavage.

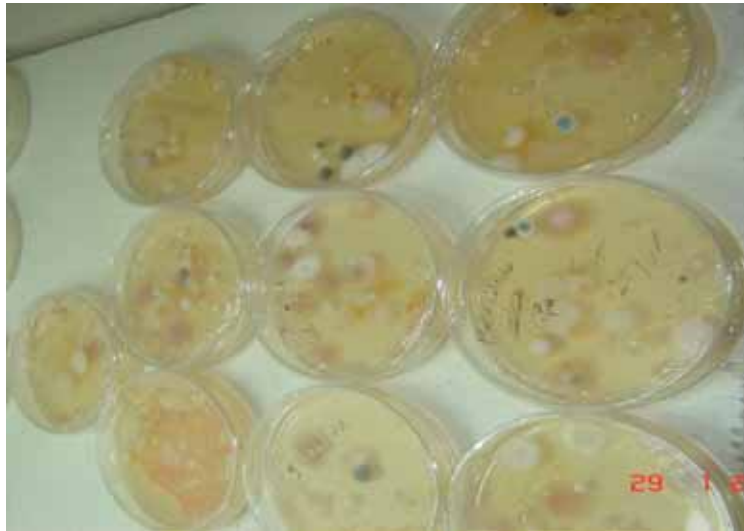
Les différents types de colonies ont été repiqués sur du milieu PDA afin d'obtenir des cultures pures et chaque type a été caractérisé selon différents critères :

- Critères morphologiques (clés de détermination)
- Critères moléculaires (extraction d'ADN, PCR sur la zone ITS, séquençage de la zone ITS, comparaison des séquences avec celles publiées).
- Le pouvoir pathogène a été évalué pour les espèces isolées fréquemment.

6.1.2. Analyse morphologique

L'identification des types de colonies a été faite sous microscope en tenant compte des critères tels que la structure du mycélium (cotonneux, crémeux), la forme des conidies, des conidiophores, la présence ou l'absence de la sporulation.

D'autres paramètres tels que la couleur du mycélium à la surface et à l'envers de la boîte de culture, la vitesse de croissance des microorganismes isolés (la taille sur le milieu PDA et sur le milieu Mathur à 3 jours), l'aspect à l'œil nu, au microscope et sur étalement entre lame et lamelle ont été évalués.



a.) Série de 10 boîtes de Pétrie après 3 jours de culture sur milieu Mathur



b.) Aspect d'une boîte de culture avec croissance de plusieurs pathogènes

Figure 14 : Isolement des pathogènes sur milieu Mathur

Une typologie de chaque espèce isolée a été effectuée au cours du temps et une collection d'une dizaine de représentants (colonies) différents de chaque type a été constituée.

La caractérisation morphologique a été faite avec la clé de détermination de Barnett & Hunter (1998).

6.1.3. Analyse moléculaire

A l'issue de la caractérisation morphologique, les souches isolées ont subi les processus suivants en vue de leur caractérisation.

6.1.3.1. Extraction de l'ADN

L'ADN génomique total a été extrait pour nos différents isolats à partir du mycélium prélevé sur des cultures en pleine croissance sur du milieu PDA. L'extraction de l'ADN s'est faite à partir du kit d'extraction rapide des champignons. Le mycélium a été gratté sur la surface d'une culture à l'aide d'un « Phytopass » (DNAlis sprl). La membrane de silice du « Phytopass » a été retirée à l'aide d'une pince stérile et introduite dans un tube Falcon de 15ml contenant 1,5ml de tampon Kaji. Après agitation, on laisse décanter pendant quelques minutes à 4° C. L'extrait d'ADN est prélevé sur le front du lit de silice et dilué au centième pour les opérations suivantes.

6.1.3.2. La réaction d'amplification (PCR)

La région ITS1-5,8S-ITS4 des 44 isolats étudiés a été amplifiée par la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) à partir de l'ADN génomique total à l'aide du couple d'amorces ITS1/ITS4 permettant d'amplifier un fragment de la taille d'environ 650 Pb (paires de base). L'amorce ITS1 (5'- TCC GTA GGT GAA CCT GCG G - 3') est localisée à l'extrémité 3' de la sous-unité d'ADNr 18S, tandis que l'amorce reverse ITS4 (5'- TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC - 3') est localisée sur la sous-unité 28S (White *et al.*, 1990).

La réaction de polymérisation s'est faite avec un volume réaction de 50µl constitué de 2µl d'ADN génomique diluée au 100^{ème}, 6µl de tampon PCR contenant du MgCl₂ (10X), 1µl des dNTPs, 1µl de chacune des amorces à 10µM, 0,2µl de l'enzyme Taq polymérase, 38,8µl d'eau. L'amplification a été réalisée dans un appareil PCR (MyCyclerTM Thermal Cycler, BioRad).

La première étape consiste en une dénaturation initiale à 94° C pendant 7minutes. La seconde étape est une répétition de 45 cycles de dénaturation à 94° C pendant 1min, d'hybridation à 60° C pendant 1min, d'élongation à 72° C pendant 3min. La dernière étape consiste en une élongation finale à 72° C pendant 10min.

Une électrophorèse des produits PCR a été effectuée sur du gel d'agarose à 1% contenant du bromure d'éthidium à 1%. La migration s'est faite à 120Volts pendant 30 min en présence d'un marqueur de poids moléculaire allant de 100 à 1000Pb. Le gel a été visualisé sous ultraviolet ; ce qui a permis de mettre en évidence les bandes d'amplification des séquences ITS de nos isolats.

6.1.3.3. Le séquençage des produits de la PCR

Les produits PCR ont été purifiés et séquencés par la société MacroGen Online Sequencing System. L'amorce ITS1 localisée du côté 3', a permis d'obtenir une séquence de 650Pb correspondant aux séquences ITS1 et ITS2 de nos différents pathogènes.

6.1.3.4. La comparaison des séquences d'alignement des paires de base

Les séquences ITS1 et ITS2 de nos isolats ont été comparées à celles disponibles dans la banque de données (GenBank) de la NCBI à l'aide du programme BLASTn sur le site <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

6.2. Evaluation du pouvoir pathogène du complexe parasitaire présent dans l'eau des bacs de dépaquetage

Le pouvoir pathogène des eaux de dépaquetage des stations de conditionnement des bananes de Dia-dia et Tiko a été évalué pendant 4 semaines (S13, S14, S15, S16). Ces eaux ayant une population microbienne relativement plus importante que les eaux de lavage.

6.2.1. Échantillonnage et différentes modalités

Les mains ont été découpées en bouquets de 4 doigts. Le bouquet constitue l'unité expérimentale et chaque modalité d'une expérience est constituée de 4 bouquets (Figure 12).

Les 4 bouquets d'une modalité sont issus de 4 régimes différents et les 4 bouquets de chaque modalité ont été prélevés sur les 4 mêmes régimes.

Toutes les répétitions d'une même modalité ont été rassemblées dans un même carton. Six cartons de 4 bouquets ont ainsi été constitués.

Chaque expérimentation a été répétée une fois par semaine, le même jour pendant 4 semaines.

Pour chaque expérience, six modalités de 4 bouquets ;

- modalité A : couronne inoculée avec de l'eau stérile (témoin négatif) ;
- modalité B : couronne inoculée avec du *Colletotrichum musae* (témoin positif) ;
- modalité C : couronne inoculée avec de l'eau (NC) de lavage des bananes de la station de Dia-dia ;
- modalité D : couronne inoculée avec de l'eau concentrée (C) de lavage des bananes de la station de Dia-dia ;
- modalité E : couronne inoculée avec de l'eau (NC) de lavage des bananes de la station de Tiko ;
- modalité F : couronne inoculée avec de l'eau concentrée (C) de lavage des bananes de la station de Tiko.

6.3. Evaluation du pouvoir pathogène des espèces isolées le plus fréquemment des eaux de dépaillage et de lavage des stations d'emballage du Cameroun

Dans cette méthode, on s'affranchit des variations saisonnières et spatiales des maladies étudiées, en appliquant les traitements sur les fruits. Un pathogène de référence est comparé aux espèces nouvellement isolées.

6.3.1. Dispositif expérimental

Le dispositif est en blocs de FISHER comportant 15 blocs, chacun étant issu d'un régime différent. Les régimes proviennent de la même parcelle et ont été sélectionnés à une même date de floraison (même couleur de marquage à la floraison). Ils ont été récoltés à une même date, lorsqu'ils ont atteint le grade commercial.

Les fruits de la même main d'un régime constituent un lot homogène car ces fruits ont eu un développement synchrone et sont situés dans le même espace et ont eu un développement physiologique uniforme. Deux mains d'un même régime constituent donc un bloc. Les différentes modalités de l'essai ont toujours été réparties sur la main N°2 et N°3 à partir du haut (18 à 20 fruits). Les fruits situés en bordure des mains n'ont jamais été utilisés, ce qui a permis de confectionner 3 à 4 bouquets de 4 fruits par main, chaque bouquet représentant l'unité parcellaire. Les bouquets de chaque régime (bloc) ont été répartis aléatoirement entre les différentes modalités.

Les 'unités expérimentales' : Chacune est constituée d'un bouquet de 4 fruits.

Espèces	Contamination	Nombre bouquets inoculés/ unité
8 espèces	Artificielle du bouquet	1 bouquet inoculé

Tous les bouquets d'un même traitement (15 bouquets) ont été réunis dans un même carton d'emballage bien identifié.

6.3.2. Différentes modalités

Il y a eu 8 traitements comparés entre eux, pour chaque espèce fréquemment isolée. Ainsi, 8 bouquets de 4 fruits ont été prélevés sur chacun des 15 régimes (répétitions) lors de l'essai. Les traitements sont les suivants :

- T1.** Fruits inoculés avec *Colletotrichum musae* (témoin). Ce témoin de référence a servi pour la comparaison avec les autres traitements.
- T2.** Fruits inoculés avec le type1 (*Fusarium monoliforme*) ;
- T3.** Fruits inoculés avec le type2 (*Fusarium spp.*) ;
- T4.** Fruits inoculés avec le type7 (*Verticillium sp.*) ;
- T5.** Fruits inoculés avec le type8 (*Cephalosporium sp.*) ;
- T6.** Fruits inoculés avec le type9 (*Cladosporium sp.*) ;
- T7.** Fruits inoculés avec le type14 (*Paecilomyces sp.*) ;
- T8.** Fruits inoculés avec le type15 (*Penicillium sp.*).

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Analyse microbiologique de l'eau des stations d'emballage

I.1. Isolement des pathogènes

Au cours de neuf semaines considérées, les microorganismes ont été isolés des eaux de dépaquetage et de lavage des stations de conditionnement des bananes. La quantité de microorganismes a été dénombrée dans un volume de 100µl d'eau étalée dans chaque boîte de culture.

➤ A Dia-dia

La quantité de spores totales est importante dans les eaux de dépaquetage au cours du temps avec un maximum de 578 spores isolées dans 100µl d'eau étalée/boîte en semaine 14 et un minimum de 125 spores isolées dans 100µl d'eau étalée/boîte en semaine 17.

Dans les eaux de lavage, il a été isolées 372 spores dans 100µl d'eau étalée/boîte en Semaine 12 contre 45 spores seulement dans 100µl d'eau étalée/boîte en semaine 16 (Figure 15).

➤ A Tiko

La courbe de variation de la quantité de microorganismes dans les eaux de dépaquetage présente 2 pics aux semaines 10 et 15 avec des valeurs de microorganismes respectives de 235 et 190 isolats ; des valeurs minimales de 53 et 45 isolats ont été obtenues respectivement en semaine 12 et 17.

La quantité de microorganismes décroît dans les eaux de lavage avec le temps. Cette courbe a une valeur maximale de 261 isolats en semaines 10 et un minimum de 45 isolats en semaine 17 (Figure 15).

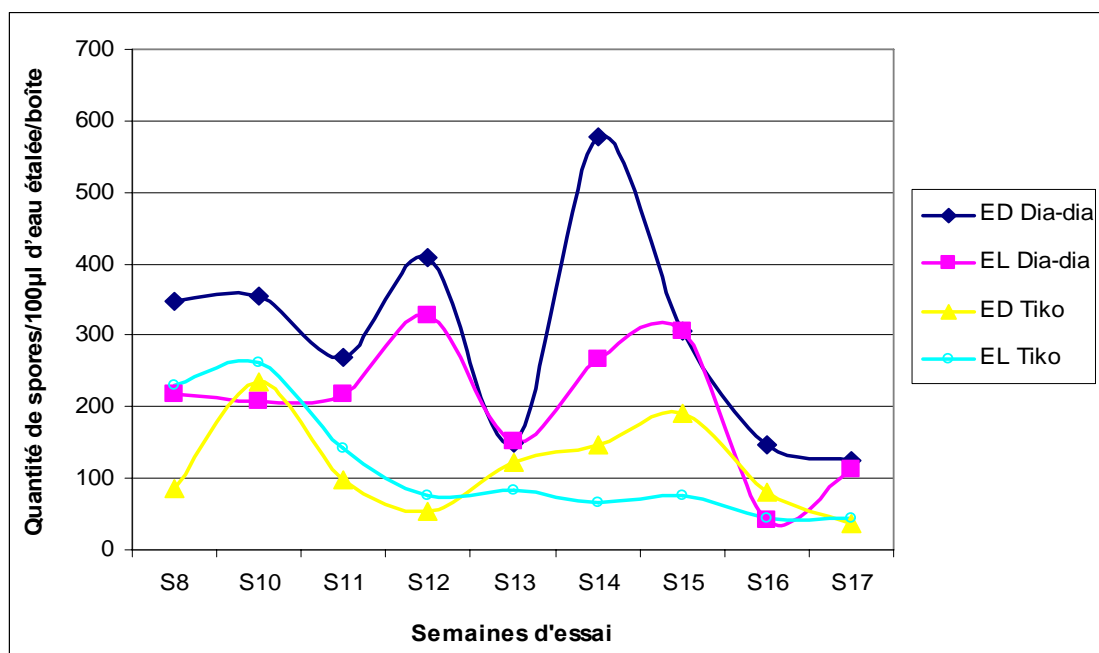


Figure 15: Variations des quantités de microorganismes isolés des eaux de dépaquetage et de lavage au cours du temps dans les stations de Dia-dia et de Tiko.

➤ A Dia-dia

Dans 100µl d'eau étalée x 10 boîtes pendant 9 semaines, nous avons dénombré un total de 2687 et 1851 spores isolées respectivement dans les eaux de dépaillage et les eaux de lavage des bananes (Figure 16).

➤ A Tiko

Dans les eaux de dépaillage aussi bien que dans les eaux lavage des bananes, une moyenne de 1038 spores ont été isolées dans 100µl d'eau étalée x 10 boîtes pendant 9 semaines (Figure 15).

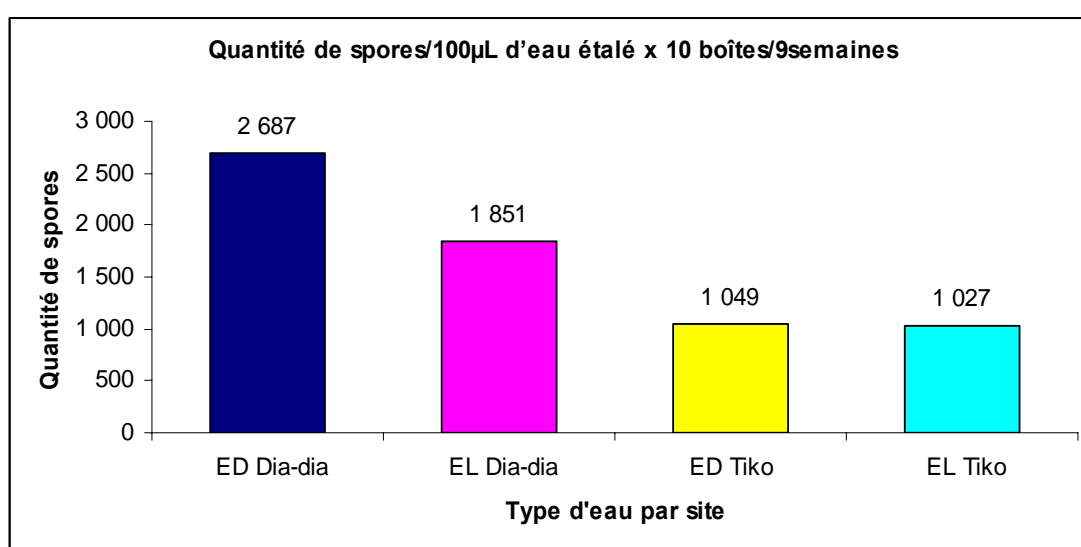


Figure 16 : Quantité totale de spores isolées dans 100µl d'eau étalée x 10 boîtes pendant 9 semaines dans les eaux de dépaillage et de lavage des stations de Dia-dia et de Tiko.

La quantité de spores totales isolées des eaux de dépaillage et de lavage des bananes en station au cours des neuf semaines a été ramenée à la quantité de spores isolées par millilitre d'eau prélevée par semaine (Annexe 4).

➤ Discussion

La quantité de microorganismes isolés tend à décroître en général au cours du temps. La période de l'essai se situe entre le milieu et la fin de saison sèche, cela expliquerait la diminution de la quantité de microorganismes isolés au cours du temps. Il est important de noter que contrairement à la saison sèche, la saison des pluies est favorable au développement des microorganismes.

La différence entre nos deux sites est bien marquée par la quantité de spores isolées. La quantité de spores présentes dans les eaux de dépaillage et de lavage de Dia-dia sont deux fois plus importantes que celles présentes dans les eaux de Tiko. Ces résultats ne concordent pas

avec ceux de Demoulin (2004) qui a noté un nombre important de spores à Tiko dont beaucoup de *Penicillium* par rapport à Dia-dia.

Il n'existe pas de différence significative entre les eaux de lavage (EL) et les eaux de dépaillage (ED) de Tiko ; tandis que cette différence est significative dans le cas des eaux de la station de Dia-dia.

L'isolement des microorganismes dans les eaux de dépaillage et de lavage des bananes en station de conditionnement a montré qu'il existe une différence quantitative et qualitative de la composition de la microflore entre les deux stations et entre les deux types d'eaux.

Ainsi, 68% de la quantité totale de spores isolées au cours des semaines d'essai proviennent de la station de Dia-dia contre 32% provenant de la station de Tiko. Cette différence pourrait s'expliquer par le mode de traitement des eaux de lavage de ces stations de conditionnement des bananes. Les eaux usées sont rejetées à Tiko tous les jours tandis qu'elles sont recyclées à Dia-dia et réutilisées pendant 3 semaines (Figure 17).

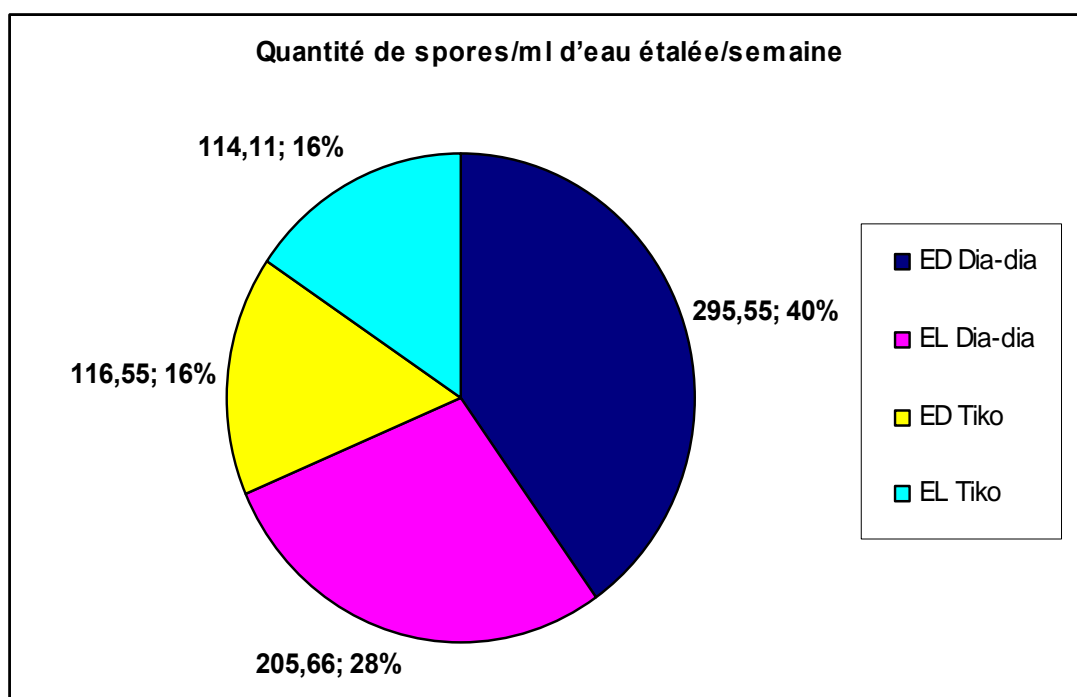


Figure 17 : Quantité moyenne de spores isolées par millilitre d'eau par semaine dans les eaux de dépaillage et de lavage des stations de Dia-dia et de Tiko.

A Dia-dia près de 300 et 200 spores par millilitre (ml) d'eau prélevée par semaine ont été isolées respectivement dans les eaux de dépaillage et les eaux de lavage ; tandis qu'à Tiko, on note une concentration d'environ 115 spores/ml d'eau prélevée quelque soit le type d'eau.

Cette quantité de spores est très inférieure à celle présente en plantation. En effet on a un faible inoculum dans l'eau des stations (maxi 200 spores/ml) par rapport à la part de la contamination au champ où l'on a des inoculations de 1000 à 10000 spores/ml (de Lapeyre de Bellaire, communication personnelle 2006).

I.2. Caractérisation morphologique

A l'issu de l'isolement des microorganismes des eaux de lavage des bananes, une collection de 260 isolats a été constituée. Nous avons pu les classifier en 44 types différents regroupés en colonies (Tableau 4). Une collection de colonies différentes a été constituée pour chaque type de microorganisme.

Le type 2 (*Fusarium* indéterminé) a constitué la plus forte colonie avec 58 isolats. Certains types sont représentés par un seul isolat (Tableau 4).

Les espèces non identifiées morphologiquement ont été deux fois plus importantes dans les eaux de Tiko par rapport à celle de Dia-dia (Tableau 5, page 53).

Les champignons microscopiques ou micromycètes regroupent les champignons filamenteux et les levures. Au fil des semaines d'isolement, une grande quantité de levures ont été présentes dans nos boîtes ; c'est la raison de l'isolement d'un type qui semble être une levure **T24** bien que leur isolement ne soit pas notre priorité.

La lecture s'est faite tous les deux jours jusqu'au 7^{ème} jour après l'étalement des eaux sur les boîtes de culture. Un seul type isolé a été identifié au jour 8 ; il s'agit du **T29** qui était assez récurant.

Tableau 4 : Types de pathogènes constituant la collection

Types de pathogènes	Nom présumé sur base d'identification morphologique	Nombre isolats de la colonie	Types de pathogènes	Nom présumé sur base d'identification morphologique	Nombre isolats de la colonie
TYPE 1	<i>Fusarium moniliforme</i>	10	TYPE 23	???	3
TYPE 2	<i>Fusarium</i> sp. (?)	58	TYPE 24	Levures	2
TYPE 3	<i>Fusarium solani</i>	10	TYPE 25	???	1
TYPE 4	<i>Fusarium oxysporum</i>	7	TYPE 26	???	1
TYPE 5	<i>Fusarium larvanum</i>	5	TYPE 27	???	1
TYPE 6	<i>Colletotrichum</i> sp.	10	TYPE 28	???	1
TYPE 7	<i>Verticillium</i> sp.	10	TYPE 29	???	1
TYPE 8	<i>Céphalosporium</i> sp.	10	TYPE 30	???	2
TYPE 9	<i>Céphalosporium</i> sp.	4	TYPE 31	???	2
TYPE 10	<i>Gliocladium</i> sp.	6	TYPE 32	???	3
TYPE 11	<i>Géotrichum</i> sp.	9	TYPE 33	???	2
TYPE 12	<i>Trichoderma</i> sp.	8	TYPE 34	???	3
TYPE 13	<i>Aspergillus</i> sp.	7	TYPE 35	???	3
TYPE 14	<i>Paecilomycès</i> sp.	10	TYPE 36	???	4
TYPE 15	<i>Penicillium</i> sp.	10	TYPE 37	???	1
TYPE 16	<i>Stilbum</i> sp.	18	TYPE 38	???	1
TYPE 17	<i>Streptomycès</i> sp.	7	TYPE 39	???	1
TYPE 18	<i>Curvularia</i> sp.	2	TYPE 40	???	1
TYPE 19	<i>Nigrospora</i> sp.	1	TYPE 41	???	1
TYPE 20	???	10	TYPE 42	???	1
TYPE 21	???	7	TYPE 43	???	1
TYPE 22	???	4	TYPE 44	???	1

A l'issue de la caractérisation morphologique, nous avons établie une typologie de nos différentes espèces isolées (Tableau 5, page 53). Elle présente les caractéristiques des types d'isolats tels qu'observées. Les informations sur la taille des différents types sur du milieu Mathur (milieu isolement) et sur le milieu PDA (milieu de conservation) y sont disponibles.

Il y est noté les aspects de la culture à l'œil nu, au microscope et sur étalement entre lame et lamelle ainsi que le nom présumé pour les espèces qui ont pu être identifiées à l'issue de la caractérisation morphologique et le nom après la caractérisation par la biologie moléculaire.

L'évaluation de la vitesse de croissance des colonies sur du milieu Mathur nous donne des valeurs de la taille moins importantes que sur le milieu PDA.

La constitution des colonies différentes d'une même espèce s'est faite en tenant compte des variations de couleurs et de la structure du mycélium, de la vitesse de croissance de la colonie, de la forme de la culture. Certaines espèces ont des colonies très variées tandis que d'autres ont un seul types de colonies.

➤ Discussion

La différence de vitesse de croissance des colonies sur les milieux d'isolement et de repiquage résulte sûrement du fait de la compétition entre les pathogènes sur le milieu Mathur contrairement au milieu PDA où nous avons à faire à des cultures pures.

Les types *Fusarium* constituent une forte colonie isolée fréquemment. Ceci rejoint les informations tirées de la littérature selon laquelle les *Fusarium* sont des pathogènes fréquemment isolés des pourritures de couronnes (Greene & Goos, 1963 ; Lukezic *et al.*, 1967 ; Marin *et al.*, 1996 ; Wallbridge & Pinegar, 1975 ; Griffée & Burden, 1976 ; Shillingford, 1976).

Les microorganismes isolés des eaux de lavage et de dépattage de Dia-dia et Tiko sont identiques à ceux les plus fréquemment isolés à partir de pourritures de couronne de bananes exportées cités dans la littérature. Il s'agit de : *Verticillium theobromae*, *Colletotrichum musae*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium roseum*, *Ceratocystis paradoxa*, *Botryodiplodia theobromae*, *Nigrospora sphaerica*, *Thielaviopsis paradoxa*, *Cladosporium* sp., *Cephalosporium* sp., *Penicillium* sp. et *Aspergillus* sp. (Lukezic *et al.*; 1967, Greene et Goos ; 1963, Wallbridge et Pinegar ; 1975, Ogundero ; 1987, Marin *et al.*; 1996, etc.).

La caractérisation morphologique à l'aide la clé de détermination de Barnett et Hunter (1998) a permis d'identifier formellement une quinzaine d'espèces. Il s'agit des types **1** (*Fusarium moniliforme*), **2** (*Fusarium* sp.), **3** (*Fusarium solani*), **4** (*Fusarium oxysporum*), **6** (*Colletotrichum* sp.), **7** (*Verticillium* sp.), **8** (*Céphalosporium* sp.), **9** (*Céphalosporium* sp.), **11** (*Géotrichum* sp.), **12** (*Trichoderma* sp), **13** (*Aspergillus* sp.), **15** (*Pénicillium* sp.), **18** (*Curvularia* sp.), **24** (levures).

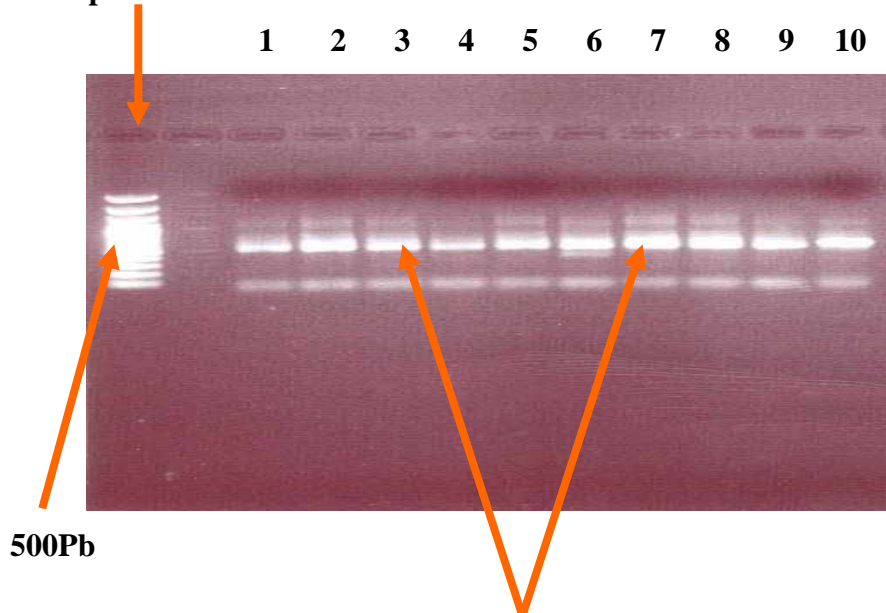
La caractérisation morphologique n'a pas parmi d'identifier plusieurs espèces particulièrement celles ne sporulant pas ; d'où le recours à la caractérisation moléculaire pour les identifier et confirmer la caractérisation morphologique effectuée précédemment.

I.3. Caractérisation moléculaire des espèces isolées

Les résultats obtenus de l'amplification des différentes souches ont révélés une amplification des ADN cibles à près de 500 paires de base.

En appliquant le protocole de la PCR tel que décrit au chapitre 3 (Matériel et méthodes) à l'ensemble des souches, nous avons pu amplifier l'ADN des 44 types d'espèces isolées (Figure 18).

Marqueur de poids moléculaire



Bandes d'amplifications des produits PCR

Figure 18 : Gel de migration des produits PCR après l'électrophorèse

Après le séquençage, les séquences de nucléotides obtenues ont été comparées avec celle contenue dans la banque de gène de la NCBI avec le programme BLAST nucléotide.

Les séquences ITS1 et ITS2 des isolats sont de taille variable. Certaines ont un fort pourcentage de similarité avec les séquences de la banque de gène tandis que d'autres n'en ont pas et il a été difficile de les identifier (Figure 19).

Le type1 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 500 Pb. Sa composition G+C est de 49 %. Ce type correspond à *Gibberella moniliformis* (anamorph: *Fusarium verticillioides*) qui est un synonyme de *Fusarium moniliforme*. Cette séquence est similaire 99 % à celle obtenue par O'donnell *et al.* (2007). Elle correspond à *Fusarium moniliforme* identifié morphologiquement.

Le type 2 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 500 Pb. Sa composition G+C est de 56 %. Cette séquence est similaire à 97 % à celles obtenues des champignons isolés par Sabev *et al.* (2006) ; des Hypocreales isolés par Posada *et al.* (2007) et des Ascomycètes isolés par Suihko *et al.* (2007). Ces trois types correspondent au *Fusarium* sp. tel qu'identifié dans la caractérisation morphologique.

Le type 3 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 8 et 9 Pb. Sa composition G+C est de 43 %. Cette séquence n'est similaire à celle d'aucun pathogène. Toutefois, il a été identifié morphologiquement comme étant du *Fusarium solani*.

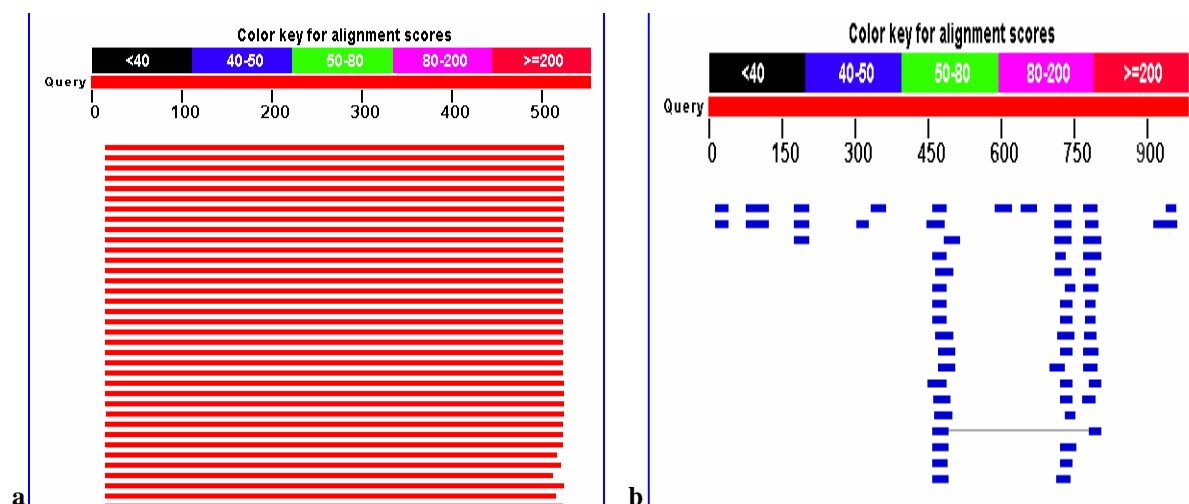


Figure 19 : Comparaison des séquences ITS avec celles de la Genbank de la NCBI ; **a.) Type 1 :** Forte homologie ; **b.) Type 3 :** Faible similarité.

Le type 4 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 481 et 488 Pb. Sa composition G+C est de 49 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celles obtenues de *Fusarium sacchari* isolé par O'donnell *et al.* (2007); de *Fusarium oxysporum* isolé par Yanez-Morales *et al.* (2005) et correspond au nom obtenu à l'issue de la caractérisation moléculaire. Ce type a été identifié morphologiquement comme étant du *Fusarium oxysporum*.

Le type 5 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 484 et 487 Pb. Sa composition G+C est de 46 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celles obtenues de *Microdochium* sp. isolé par Buzina *et al.* (2003); à 95 % de *Sphaerulina musae* isolé par Crous *et al.* (2003). Le premier de ces pathogènes est apparenté au *Fusarium* sp. et responsable des fusarioses des plantes tandis que le second est responsable des tâches sur les feuilles de bananier. Ce type avait été identifié comme étant du *Fusarium lavarnum*.

Le type 6 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 374 et 396 Pb. Sa composition G+C est de 33 %. Cette séquence est similaire à 99 % à celle obtenue de *Dipodascus capitatus* (anamorph: *Geotrichum capitatum*) isolé par Buzina *et al.* (2003). Ce type été identifié morphologiquement comme étant du *Colletotrichum* sp.

Le type 7 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 6 Pb. Sa composition G+C est de 43 %. Ce type n'est similaire à aucun pathogène. Toutefois, il a été identifié morphologiquement comme étant du *Verticillium* sp.

Le type 8 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 281 Pb. Sa composition G+C est de 36 %. Cette séquence est similaire à 96 % à celles obtenues de *Dipodascaceae* sp. isolé par Mahdi & Donachie (2006) et à 97 % de *Galactomyces geotrichum* isolé par Wirsal *et al.* (2001). Ce type a été identifié morphologiquement comme étant du *Cephalosporium* sp.

Le type 9 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 487 Pb. Sa composition G+C est de 51 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celle obtenue de *Cladosporium oxysporum* isolé par Wang *et al.* (2006). Il correspond à l'identification morphologique.

Le type 10 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 500 et 511 Pb. Sa composition G+C est de 52 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celle obtenue de *Cordyceps sobolifera* (anamorph: *Beauveria sobolifera*) isolé par Chen *et al.* (2003). Elle a été identifiée comme étant du *Gliocladium* sp.

Le type 11 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 30 et 31 Pb. Sa composition G+C est de 39 %. Ce type n'est similaire à aucun pathogène. Toutefois, il a été identifié morphologiquement comme étant du *Geotrichum* sp.

Le type 12 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 234 et 400 Pb. Sa composition G+C est de 55 %. Cette séquence est similaire à 96 % à celle obtenue de *Hypocrea lixii* (anamorph: *Trichoderma harzianum*) isolé par Nagy *et al.* (2006). Il correspond à l'espèce identifiée morphologiquement.

Le type 13 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 442 et 443 Pb. Sa composition G+C est de 57 %. Cette séquence est similaire à 96 % à celle obtenue d'*Aspergillus sclerotiorum* isolé par Haugland *et al.* (2004). Il correspond à l'espèce identifiée morphologiquement.

Le type 14 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) est de 519 Pb. Sa composition G+C est de 56 %. Cette séquence est similaire à 96 % à celle obtenue de *Penicillium sclerotiorum* isolé par Haugland *et al.* (2004). Il a été identifié morphologiquement comme étant du *Paecilomyces* sp.

Le type 15 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) est de 534 Pb. Sa composition G+C est de 60 %. Cette séquence est similaire à 99 % à celle obtenue de *Penicillium oxalicum* isolé par Vega *et al.* (2005). Il correspond à l'espèce identifiée morphologiquement.

Le type 16 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 485 et 503 Pb. Sa composition G+C est de 52 %. Cette séquence est similaire à 91 % à celles obtenues d'une souche d'Ascomycete isolé par Gilbert *et al.* (2002) et de *Beauveria felina* isolé par Luna-Conde (2003). Il a été identifié morphologiquement comme étant du *Stilbum* sp.

Le type 17 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 583 Pb. Sa composition G+C est de 43 %. Cette séquence est similaire à 91 % à celle obtenue de *Psilocybe coprophila* isolé par Watling & Martin (2003). Il a été identifié morphologiquement comme étant du *Streptomyces* sp.

Le type 18 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 419 et 505 Pb. Sa composition G+C est de 46 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celle obtenue de *Cochliobolus lunatus* (anamorph: *Curvularia lunata*) isolé par Desnos-Ollivier *et al.* (2006). Il correspond à l'espèce identifiée morphologiquement.

Le type 19 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 478 et 493 Pb. Sa composition G+C est de 51 %. Cette séquence est similaire à 96 % à celles obtenues de l'Ascomycète mélanisé du calcaire isolé par Ruibal *et al.* (2004) et à 89 % de *Capnodium* sp. isolé par Menkis *et al.* (2004). Il a été identifié morphologiquement comme étant du *Nigrospora* sp.

Le type 20 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 38 et 61 Pb. Sa composition G+C est de 47 %. Cette séquence est similaire à 89 % à celles obtenues d'un champignon endophyte isolé par Promputtha *et al.* (2004) et à 87 % de *Phomopsis* sp. isolé par Furukawa *et al.* (2006).

Le type 21 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 390 et 396 Pb. Sa composition G+C est de 42 %. Cette séquence est similaire à 95 % à celle obtenue de *Saprolegnia* sp. isolé par Bailey *et al.*, (2004).

Le type 22 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 280 et 426 Pb. Sa composition G+C est de 46 %. Cette séquence est similaire à 94 % à celle obtenue d'un Basidiomycète sp. isolé par Chouiter *et al.* (2004) et à 89 % à celle obtenue de *Ganoderma lucidum* isolé par Wang & Yao (2005).

Le type 23 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 541 Pb. Sa composition G+C est de 41 %. Cette séquence est similaire à 96 % à celle obtenue d'*Aphylllophorales* sp. isolé par Mahdi & Donachie (2006).

Le type 24 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 461 et 467 Pb. Sa composition G+C est de 47 %. Cette séquence est similaire à 95 % à celle obtenue de *Cryptococcus* sp. isolé par Scorzetti *et al.* (2002). Il correspond à l'espèce identifiée morphologiquement ; il s'agit d'une levure phytopathogène.

Le type 25 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) est de 338 Pb. Sa composition G+C est de 39 %. Cette séquence est similaire à 99 % à celle obtenue de *Fusarium* sp. isolé par Lin *et al.* (2007).

Le type 26 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) est de 496 Pb. Sa composition G+C est de 53 %. Cette séquence est similaire à 97 % à celle obtenue de *Pleurotus ostreatus* (champignon de l'huître) isolé par Oh *et al.* (2001).

Le type 27 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 14 et 22 Pb. Sa composition G+C est de 56 %. Cette séquence est similaire à 78 % à celle obtenue de *Cordyceps sobolifera* (anamorph: *Beauveria sobolifera*) isolé par Chen *et al.* (2003).

Le type 28 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 494 et 506 Pb. Sa composition G+C est de 57 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celle obtenue de *Cordyceps brongniartii* (anamorph: *Cordyceps bassiana*) isolé par Carneiro *et al.* (2005).

Le type 29 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 333 et 340 Pb. Sa composition G+C est de 49 %. Cette séquence est similaire à 97 % à celle obtenue de *Beauveria felina* isolé par Luna-Conde (2003).

Le type 30 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 409 et 429 Pb. Sa composition G+C est de 53 %. Cette séquence est similaire à 95 % à celle obtenue de *Penicillium sclerotiorum* isolé par Haugland *et al.* (2004).

Le type 31 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 474 et 488 Pb. Sa composition G+C est de 52 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celles obtenues d'un Ascomycète isolé par Rubini *et al.* (2004) et de *Botryosphaeria rhodina* (anamorph: *Lasiodiplodia theobromae*) isolé par Gilbert & Webb (2007).

Le type 32 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 527 et 533 Pb. Sa composition G+C est de 51 %. Cette séquence est similaire à 93 % à celle obtenue de *Dothioraceae* sp. isolé par Mahdi & Donachie (2006).

Le type 33 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 344 et 378 Pb. Sa composition G+C est de 43 %. Cette séquence est similaire à 98 % à celles obtenues d'une souche d'Ascomycète isolé par Gilbert *et al.* (2002) ; à 97 % des Hypocreales isolés par Mahdi & Donachie (2006) et à 95 % de *Volutella* sp. isolé par Cooper (2007).

Le type 34 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 427 Pb. Sa composition G+C est de 47 %. Ce type est similaire à 98 % aux *Ascomycota* sp. isolés par Mahdi & Donachie (2006) et à 97 % à *Didymella bryoniae* isolé par Furukawa *et al.* (2006).

Le type 35 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 14 et 19 Pb. Sa composition G+C est de 51 %. Ce type est similaire à 69 % *Pleosporales* sp. isolé par Morakotkarn *et al.* (2006).

Le type 36 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 466 et 480 Pb. Sa composition G+C est de 42 %. Ce type est similaire à 84 % *Chondrostereum purpureum* isolé par Matheny *et al.* (2007).

Le type 37 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 41 et 80 Pb. Sa composition G+C est de 59 %. Ce type est similaire à 85 % *Neonectria veuillotiana* isolé par Hirooka *et al.* (2006) et à 89 % à *Fusarium lateritium* isolé par Geiser *et al.* (2005) et à *Fusarium solani* f. sp. *Eumartii* isolé par Romberg & Davis (2005).

Le type 38 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) est de 446 Pb. Sa composition G+C est de 49 %. Ce type est similaire à 99 % à l'*Aspergillus* non cultivé isolé par Qu *et al.* (2006) ; à 98 % à une souche d'Ascomycete isolé par Gilbert *et al.* (2002) ; à 97 % aux *Leptosphaeriaceae* isolés par Murat *et al.* (2005).

Le type 39 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) est de 487 Pb. Sa composition G+C est de 51 %. Ce type est similaire à 98 % à *Cladosporium cladosporioides* isolé par Hu *et al.* (2007).

Le type 40 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 475 et 484 Pb. Sa composition G+C est de 51 %. Ce type est similaire à 97 % à l'Ascomycète mélanisé du calcaire isolé par Ruibal *et al.* (2004), à 89 % à *Capnodium* sp. isolé par Menkis *et al.* (2004) et à 82 % à *Mycosphaerella parva* isolé par Maxwell *et al.* (2003).

Le type 41 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 478 et 484 Pb. Sa composition G+C est de 51 %. Ce type est similaire à 99 % à *Cylindrocladium hawksworthii* isolé par Chen *et al.* (2005) et à 97 % à *Calonectria morganii* (anamorph: *Cylindrocladium scoparium*) isolé par Jeng & Dumas (1995).

Le type 42 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 509 et 520 Pb. Sa composition G+C est de 55 %. Cette séquence est similaire à 85 % à celles obtenues des champignons du sol isolés par Waldrop *et al.* (2006) et à *Microdiplodia* sp. G16A isolé par Mwangi *et al.* (2007).

Le type 43 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 6 et 10 Pb. Sa composition G+C est de 41 %. Ce type n'est similaire à aucun pathogène.

Le type 44 à une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) comprise entre 12 et 20 Pb. Sa composition G+C est de 44 %. Ce type est similaire à 89 % à *Hypocenyomyce scalaris* isolé par Hofstetter & Lutzoni (2006).

➤ Discussion

La séquence de la région d'ADN analysée ITS1-5,8S-ITS2 a une longueur moyenne de ± 650 Pb. Cette valeur concorde avec la norme de 600-800 Pb généralement définie pour les champignons (Gardes & Bruns, 1996).

La caractérisation moléculaire nous a permis d'identifier les types de colonies non identifiées morphologiquement, particulièrement celle sans fructification et par conséquent difficiles à décrire. Par ailleurs, la caractérisation morphologique préalable a été confirmée pour la plupart des espèces.

Certains types de pathogènes tels que les types **3**, **7** et **11** n'ont pas pu être caractérisés de manière moléculaire du fait du manque d'homologie avec les séquences de nucléotides de la Genbank. Toutefois, leur caractérisation morphologique a été faite, et est fiable. Il s'agit respectivement de *Fusarium solani*, de *Verticillium* sp. et de *Geotrichum* sp.

Les types **6** et **8** ont des séquences d'alignement des nucléotides ne correspondant pas aux espèces identifiées morphologiquement. Ceci résulterait probablement d'une erreur dans la constitution de la collection des 10 colonies différentes de ces types ou d'un problème de contamination de la souche au cours des multiples repiquages. L'identification morphologique de ces pathogènes est bien formelle et les confirme comme étant respectivement du *Colletotrichum musae* et du *Céphaalosporium* sp. De nouvelles analyses devraient être effectuées afin de confirmer la caractérisation morphologique.

Les types **14** et **30** sont identiques, il s'agit des *Penicillium sclerotium* ; aucun *Paecilomycès* sp. n'a été identifié. Ces deux types appartiennent au type **15** (*Penicillium* sp.).

Plusieurs types sont des *Beauvaria* sp. ; il s'agit des types **10**, **16**, **27**, **28**, **29**.

Le type **24** correspond bien à une levure phytopathogène.

Le type **39** (*Cladosporium Cladosporoides*) appartient à la même espèce que le type **9** : (*Cladosporium oxysporum*).

De nombreux *Fusarium* sp. ont été identifiés parmi nos 44 types de microorganismes.

Les types **3**, **6**, **7**, **8**, **11** et **43** n'ont pas pu être caractérisés de manière moléculaire. Cependant, l'identification morphologique des types **3**, **6**, **7**, **8** et **11** a été formelle. A l'exception du type **43**, toute possibilité de classer ces types non identifiés comme étant des nouveaux champignons ou des groupes de champignons dont la séquence n'a pas encore été soumise à la GenBank est à exclure.






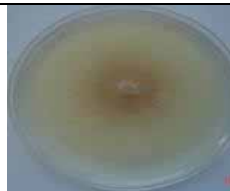

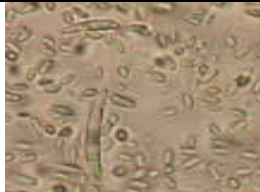


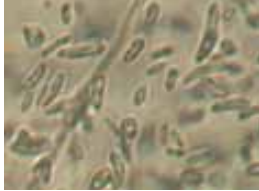
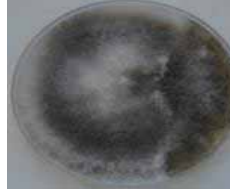
Pour certaines espèces non identifiées, le nombre de paire de bases concordant avec les séquences publiées était très faible voir aberrant. C'est par exemple le cas du type **7** avec une longueur de la séquence de la région ITS entière (5,8S inclut) de 6 Pb.

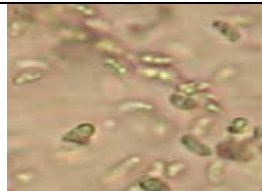
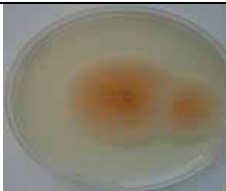







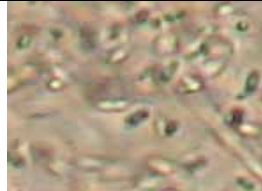





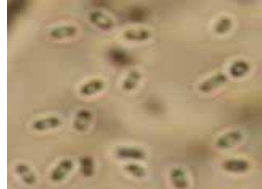

Il serait impératif de reprendre les essais de caractérisation moléculaire des espèces représentées par ces types **3**, **6**, **7**, **8**, **11** et **43** avec les autres colonies de même type de la collection pour confirmer l'identification morphologique pour certains et caractériser d'autres. Ceci afin d'écarter toute hypothèse de contamination éventuelle.





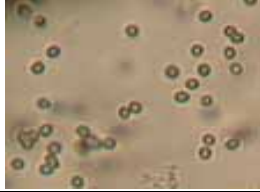










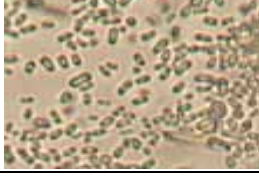

Les types dont les séquences ITS sont similaires à plus d'un microorganisme devraient subir des essais complémentaires tels que la vérification de leur espèce dans une mycothèque.







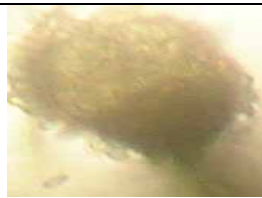







Les types de pathogènes identifiés passent de 44 types à 35 types différents avec une forte dominance des *Fusarium* sp.





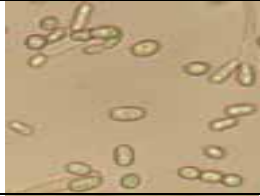












Tableau 5: Typologie des microorganismes isolés des eaux de lavage des bananes en station d'emballage





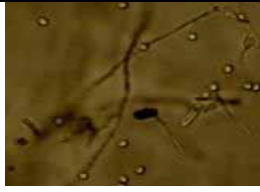


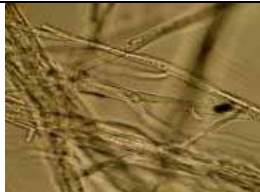


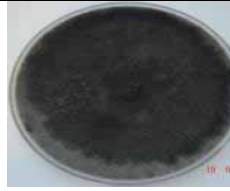




Type, Site, semaine d'isolement	Sur milieu Mathur				Sur milieu PDA		Espèce présumée ----- Nom après la B.M.
	Caractéristiques morphologiques (Couleur, forme, structure)	Taille à J4 (mm)	Aspect au microscope	Etallement sur lame et lamelle	Aspect à l'œil nu à 7 jours	Taille à J3 (mm)	
T1 Dia-dia S8	Mycélium blanc a violacé ou orangé, croissance rapide, conidiophore assez long, simple ou branché, conidies non cloisonnées, ovales a allongées, en chaîne ou en amas à l'extrémité d'un phialide, macroconidies légèrement incurvées	38				65	<i>Fusarium moniliforme</i> ----- <i>Gibberella moniliformis</i>
T2 Dia-dia S8	Mycélium blanc, rosé, jaunâtre, orange, violet, ou ras, croissance rapide, conidiophore long, simple ou branché, conidies en amas à l'extrémité d'un phialide, conidies incurvées, cloisonnées	32				41	<i>Fusarium sp.</i> ----- <i>Fusarium sp.</i>
T3 Dia-dia S8	Mycélium blanc cotonneux ou crémeux, croissance rapide, conidiophore long, simple, conidies ovoïdes, en amas à l'extrémité d'un phialide, macroconidies légèrement incurvées	22				25	<i>Fusarium solani</i> ----- Non identifié
T4 Dia-dia S8	Mycélium blanc a violacé ou orangé, croissance rapide, conidiophore court, simple, conidies ovales a allongées, non cloisonnées, en amas à l'extrémité d'un phialide, beaucoup de macroconidies légèrement incurvées	24				28	<i>Fusarium oxysporum</i> ----- <i>Fusarium oxysporum</i>

















T5 Dia-dia S8	Mycélium orange, crémeux, opaque, (mycélium blanc, cotonneux), conidies très petites et assez incurvées, hyalines	18	Rien			21	<i>Fusarium Larvanum</i> ----- <i>Microdochium</i> sp ou <i>Sphaerulina musae</i>
T6 Dia-dia S8	Mycélium blanc a tendance verdâtre, conidiophore long, simple, avec une à deux conidies à son extrémité, conidies ovales	31				36	<i>Colletotrichum</i> sp. ----- <i>Dipodascus capitatus</i>
T7 Dia-dia S8	Mycélium blanc à grisâtre, conidiophore long, branché, conidies ovales a allongées	15				27	<i>Verticillium</i> sp. ----- Non identifié
T8 Dia-dia S8	Mycélium blanc à rosé, conidiophores et phialides longs, conidies hyalines, allongées	7				13	<i>Cephalosporium</i> sp. ----- <i>Dipodascaceae</i> sp.
T9 Tiko S10	Mycélium vert brun à vert gris, conidiophore long, branché à l'apex, conidies ovales et en chaînes	8				14	<i>Cladosporium</i> sp. ----- <i>Cladosporium oxysporum</i>
T10 Dia-dia S11	Mycélium rose, jaune, blanc... avec des filaments, conidiophore ramifié, branché à l'extrémité comme le pénicillium, conidies hyalines uniques	6				13	<i>Gliocladium</i> sp. ----- <i>Cordyceps sobolifera</i> = <i>Beauveria sobolifera</i>








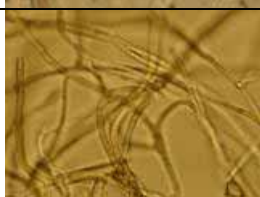

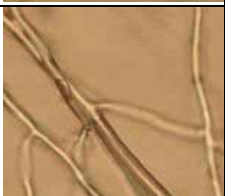



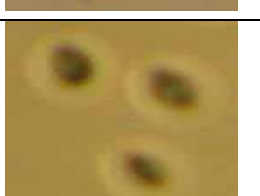

T11 Dia-dia S8	Mycélium blanc, généralement ras, crémeux, cloisonné, pas de conidiophore, conidie en chaînes, cylindriques avec des extrémités incurvées	20				22	<i>Geotrichum</i> sp. ----- <i>Non identifié</i>
T12 Dia-dia S8	Mycélium blanc à vert jaune, croissance rapide, conidiophore branché, présence de phialides, conidies ovales	44				68	<i>Trichoderma</i> sp. ----- <i>Trichoderma harzianum</i>
T13 Dia-dia S8	Mycélium blanc, conidiophore long ayant une boule à son extrémité, conidies globuleuses et en chaînes, de couleur variable	38				50	<i>Aspergillus</i> sp. ----- <i>Aspergillus sclerotiorum</i>
T14 Dia-dia S10	Mycélium blanc à vert, conidiophore long, branché vers l'apex, conidies ovoïdes, en chaînes divergentes	15				18	<i>Paecilomycès</i> sp. ----- <i>Penicillium sclerotiorum</i>
T15 Dia-dia S8	Mycélium blanc à vert, conidiophore long, branché vers l'apex, conidies ovoïdes, en chaînes et orientés	15				18	<i>Penicillium</i> sp. ----- <i>Penicillium oxalicum</i>
T16 Dia-dia S10	Mycélium blanc crème, conidiophore long, branché, conidies ovales a allongées	5	Rien			10	<i>Stilbum</i> sp. ----- <i>Beauveria felina</i>

T17 Dia-dia S8	Mycélium blanc jaunâtre, ras, très compact, conidies en chaînes, pas de conidiophore, cylindrique, odeur forte	16	Rien			19	<i>Streptomyces</i> sp. ----- <i>Psilocybe coprophila</i>
T18 Dia-dia S8	Mycélium marron sombre, conidiophore long, simple, conidies ellipsoïdales, marron, cloisonnées, arrondie à l'extrémité, légèrement incurvées	15				33	<i>Curvularia</i> sp. ----- <i>Curvularia lunata</i>
T19 Tiko S10	Mycélium vert foncé, conidiophore court, arrondie à l'extrémité, conidie unique, globuleuse, de couleur sombre	11				11	<i>Nigrospora</i> sp. ----- Ascomycete melanise du calcaire ou <i>Capnodium</i> sp.
T20 Tiko S14	Mycélium blanc, ras, pas de spores, fructification à la surface de la culture après 2 à 3 semaines	11				12	??? ----- Champignon endophyte ou <i>Phomopsis</i> sp.
T21 Tiko S13	Mycélium blanc, croissance rapide, hyphe cloisonné, hyalin, conidies ovoïdes	40				72	??? ----- <i>Saprolegnia</i> sp.

T22 Dia-dia S8	Mycélium blanc, ras, croissance lente, hyphe cloisonné et imbriqués, comme des chaînes torsadées, de couleur verte pas de spores	11				15	??? ----- Basidiomycete ou <i>Ganoderma lucidum</i>
T23 Dia-dia S8	Mycélium blanc, croissance rapide, hyphe cloisonné, de couleur verte pas de spores	13				16	??? ----- <i>Aphyllorphorales sp.</i>
T24 Dia-dia S8	Mycélium blanc, rose, orange ou couleur crème, crémeux, opaque, croissance moyennement rapide, conidies ovales	8	Rien			13	Levures ----- <i>Cryptococcus sp.</i>
T25 Dia-dia S8	Mycélium pourpre, croissance lente, conidiophore long, simple, conidies non cloisonnées, ovales, en chaîne, semblable au <i>Fusarium moniliforme</i>	13				15	??? ----- <i>Fusarium sp.</i>
T26 Dia-dia S8	Mycélium blanc jaunâtre, conidiophore long, simple, conidies ovoïdes, en amas à l'extrémité d'un phialide	13				15	??? ----- <i>Pleurotus ostreatus</i>
T27 Dia-dia S8	Mycélium blanc, ras, croissance rapide, hyphe cloisonné, de couleur verte pas de spores	8				10	??? ----- <i>Cordyceps sobolifera</i> = <i>Beauveria sobolifera</i>

T28 Tiko S13	Mycélium blanc, conidiophore court ayant une boule à son extrémité, conidies globuleuses et en chaînes, de couleur variable, semblable à <i>Aspergillus</i> sp	16				16	??? ----- <i>Cordyceps brongniartii</i> = <i>Cordyceps bassiana</i>
T29 Tiko S13	Mycélium blanc, filamenteux, hyphes cloisonnés, pas de conidiophores, conidies en chaînes, ovoïdes à allongées,	3				12	??? ----- <i>Beauveria felina</i>
T30 Tiko S14	Mycélium gris rosâtre, ras, croissance lente, hyphe cloisonné, de couleur verte pas de spores	14				16	??? ----- <i>Penicillium sclerotiorum</i>
T31 Tiko S14	Mycélium gris foncé, cotonneux, conidiophore court ayant une boule à son extrémité, conidies globuleuses et en chaînes, de couleur variable	46	Rien			83	??? ----- <i>Botryosphaeria rhodina</i> = <i>Lasiodiplodia theobromae</i>
T32 Dia-dia S14	Mycélium vert foncé à vert brun, lisse, opaque, hyphe cloisonnés, spores de couleur verte	10	Rien			12	??? ----- <i>Dothioraceae</i> sp.
T33 Tiko S15	Mycélium pourpre, cotonneux, opaque, conidies arrondies	7	Rien			15	??? ----- <i>Hypocreales</i> sp. ou <i>Volutella</i> sp.

T34 Tiko S15	Mycélium vert à brun foncé, hyphe cloisonné et imbriqués, pas de spores	18				25	??? ----- <i>Didymella bryoniae</i>
T35 Tiko S15	Mycélium gris beige, conidiophore court, simple, conidies ovales a allongées, non cloisonnées	11				14	??? ----- <i>Pleosporales sp.</i>
T36 Tiko S15	Mycélium blanc, cotonneux, hyphe non cloisonné pas de conidiophore, pas de spore	19				18	??? ----- <i>Chondrostereum purpureum</i>
T37 Dia-dia S15	Aspect cotonneux, couleur crème, opaque, pas de cloison, spore cylindrique à allongée	14	Rien			16	??? ----- <i>Neonectria veuillotiana</i> ou <i>Fusarium lateritium</i> ou <i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>Eumartii</i>
T38 Tiko S16	Mycélium brunâtre, cotonneux, opaque, conidies arrondies	13	Rien			15	??? ----- <i>Aspergillus</i> ou souche d'Ascomycete ou <i>Leptosphaeriaceae</i>
T39 Dia-dia S16	Mycélium vert-grisâtre, cotonneux, pas de conidiophores, pas de spores	18				20	??? ----- <i>Cladosporium cladosporioides</i>

T40 Dia-dia S16	Mycélium marron foncé, cotonneux, structure assez imbriquée, spores allongées,	5				9	<p>???</p> <p>-----</p> <p>Ascomycete melanise du calcaire ou <i>Capnodium</i> sp. ou <i>Mycosphaerella parva</i></p>
T41 Dia-dia S16	Mycélium marron brun, cotonneux, conidiophore peu distinct, hyphe non cloisonné, spores arrondies	15				21	<p>???</p> <p>-----</p> <p><i>Cylindrocladium hawksworthii</i></p>
T42 Tiko S16	Mycélium blanc verdâtre, lisse à cotonneux, hyphe non cloisonnés, pas de spores	18				22	<p>???</p> <p>-----</p> <p><i>Microdiplodia</i> sp.</p>
T43 Tiko S17	Mycélium jaunâtre, cotonneux, hyphe non cloisonné, pas de conidiophore, spores cylindriques à allongées	16				18	<p>???</p> <p>-----</p> <p>Non identifié</p>
T44 Tiko S17	Mycélium orange, cotonneux, conidies en chaines branchées, spores arrondies	6				9	<p>???</p> <p>-----</p> <p><i>Hypocenomyce scalaris</i></p>

I.4. Composition du complexe parasitaire

I.4.1. Composition du complexe parasitaire à Dia-dia

Le complexe de parasite responsable des pourritures de couronne classé par ordre décroissant de la quantité de colonies dénombrées est (Figure 20) :

1. *Verticillium* sp.,
2. *Penicillium* sp.,
3. *Cephalosporium* sp.,
4. *Fusarium monoliforme*,
5. *Cladosporium* sp.,
6. *Fusarium* sp.,
7. *Colletotrichum* sp.,
8. *Aspergillus* sp.,
9. *Fusarium oxysporum*.

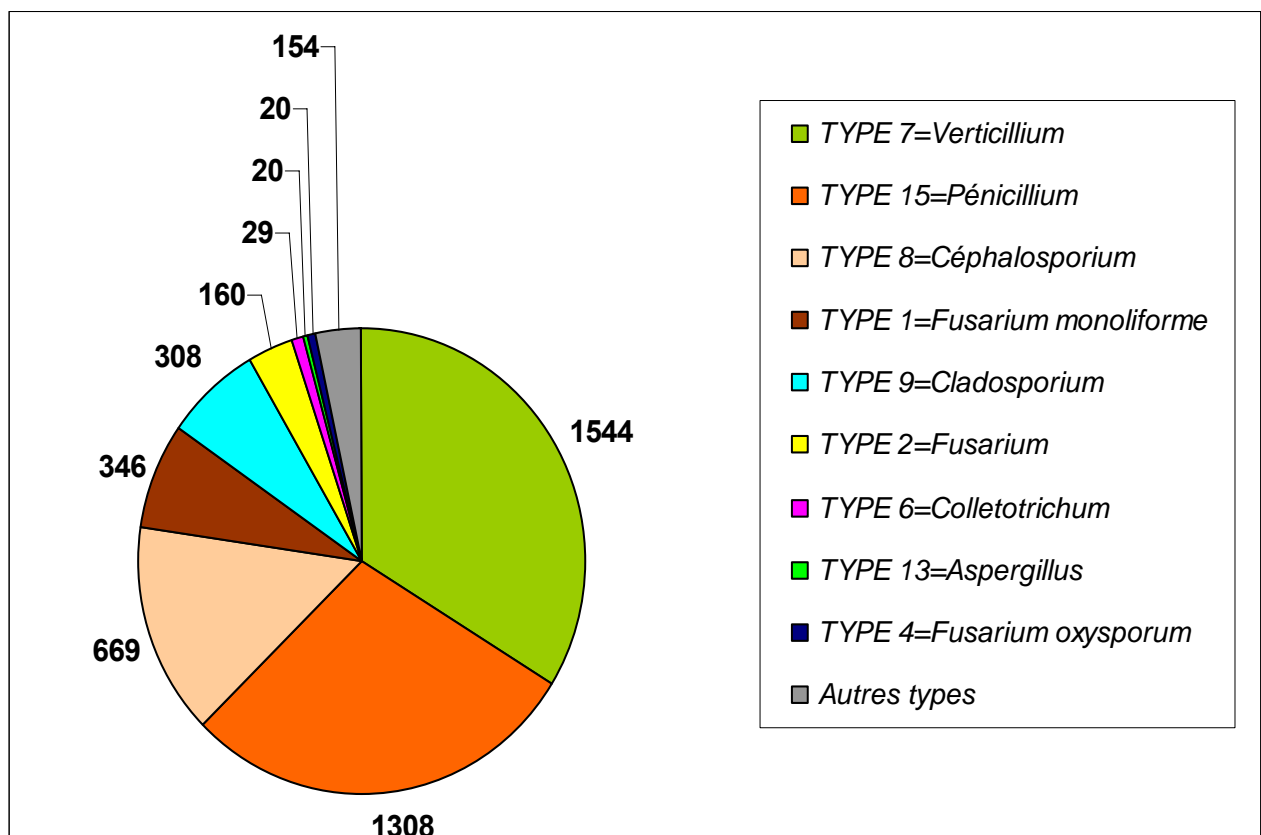


Figure 20 : Quantité de spores de la microflore des eaux de dépaillage et de lavage de la station de Dia-dia isolée dans 100microlitres d'eau x 10 boîtes pendant 9 semaines.

I.4.2. Composition du complexe parasitaire à Tiko

Le complexe parasitaire des pathogènes de la pourriture de couronnes de bananes classé par ordre décroissant de la quantité de colonies dénombrées est (Figure 21) :

1. *Penicillium* sp.,
2. *Cladosporium* sp.,
3. *Verticillium* sp.,
4. *Céphalosporium* sp.,
5. *Fusarium* sp.,
6. *Trichoderma* sp.,
7. *Fusarium monoliforme*

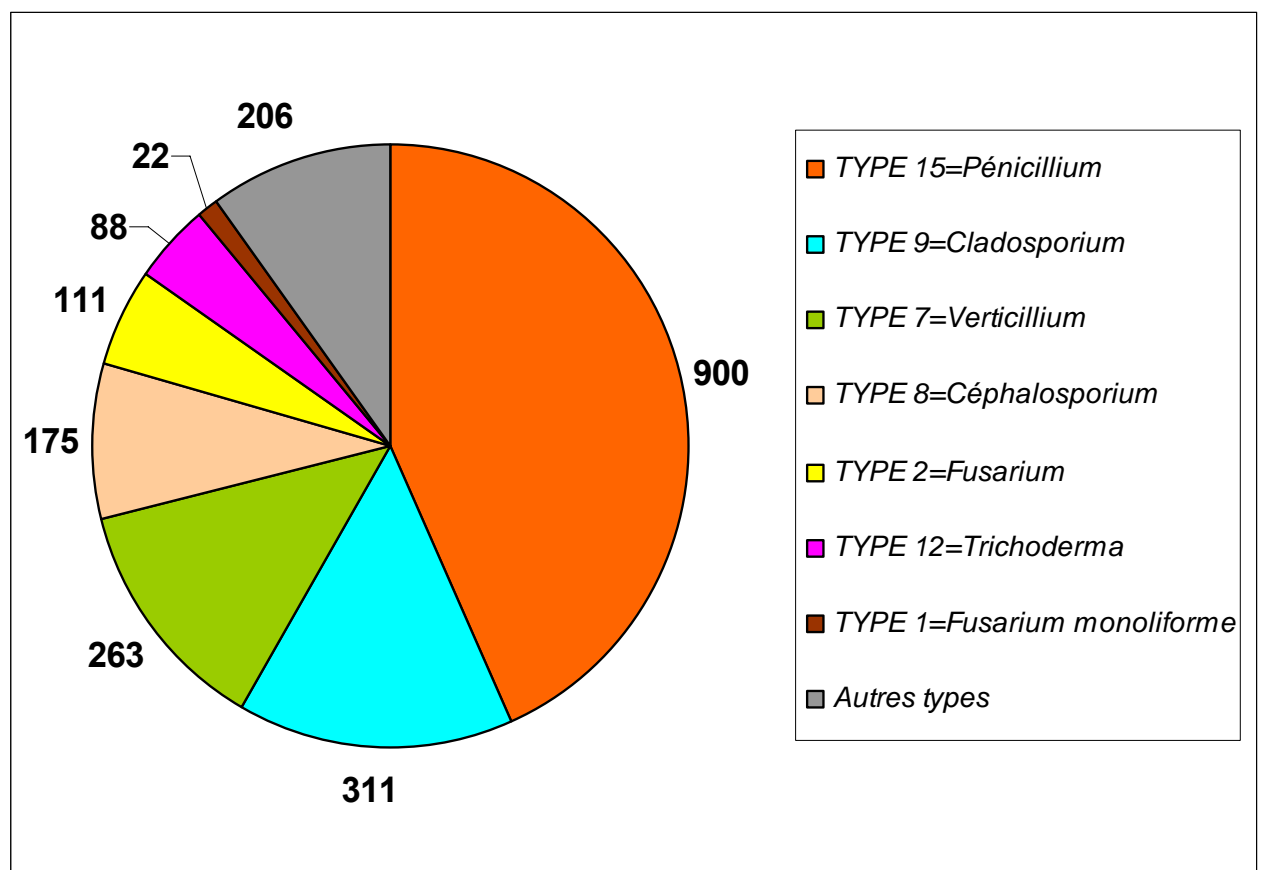


Figure 21: Quantité de spores de la microflore des eaux de dépaillage et de lavage de la station de Tiko isolée dans 100microlitres d'eau x 10 boîtes pendant 9 semaines.

I.4.3. Composition du complexe parasitaire au Cameroun : Généralisation

Les pathogènes les plus fréquemment isolés des eaux de dépaillage et de lavage des bananes des deux stations d'emballage réunies classé par ordre décroissant de la quantité de colonies dénombrées sont:

1. TYPE 15 = *Penicillium* sp.
2. TYPE 7 = *Verticillium* sp.
3. TYPE 8 = *Céphalosporium* sp.
4. TYPE 9 = *Cladosporium* sp.
5. TYPE 1 = *Fusarium moniliforme*
6. TYPE 2 = *Fusarium* sp.
7. TYPE 12 = *Trichoderma* sp.
8. TYPE 6 = *Colletotrichum* sp.

Les pathogènes les plus importants sont les types **15** et **7** (*Pénicillium* sp. et *Verticillium* sp.) avec respectivement 2208 et 1807 isolats tandis que les moins importants sont les types **12** et **6** (*Trichoderma* sp. et *Colletotrichum* sp.) avec 97 et 35 isolats respectivement.

Les autres types ne représentent que 6% de la quantité totale de spores isolées des eaux de lavage soit 365 isolats (Figure 22).

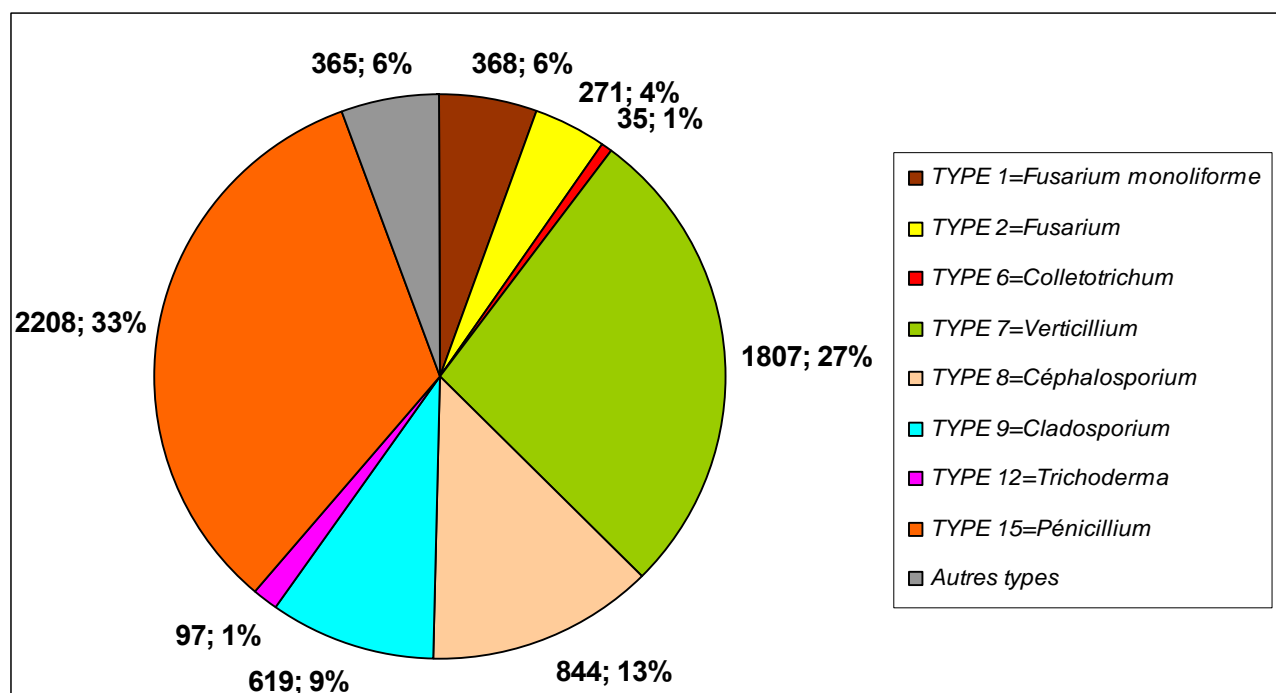


Figure 22 : Quantité de spores de la microflore des eaux de dépaillage et de lavage de la station de Dia-dia et de Tiko isolée dans 100microlitres d'eau x 10 boîtes pendant 9 semaines.

➤ Discussion

La composition du complexe parasitaire responsable de la pourriture de couronne est différente dans les deux régions étudiées. Ainsi, à Dia-dia nous avons en moyenne 9 espèces qui reviennent régulièrement contre 7 à Tiko.

L'isolement des différents types de colonies des eaux de dépattage et de lavage pendant neuf semaines dans les deux stations ne montre pas de variations au cours du temps. Cependant il serait intéressant de rechercher des variations dues à l'effet des saisons.

Les proportions de 29 isolats à Dia-dia contre 6 isolats à Tiko correspondent à celle de *Colletotrichum* sp. au cours des 9 semaines d'isolement. Il est important de s'attarder sur la présence de *Colletotrichum* sp. dans les eaux de dépattage et de lavage étant donné qu'il a rarement été isolé des eaux de lavage des bananes et serait dû à la présence des débris dans les eaux des bacs (Shillingford, 1976).

Les eaux de Dia-dia contiennent plus de pathogènes que celles de Tiko. Les microorganismes présents dans les eaux de Dia-dia font partir des pathogènes majeurs de la pourriture des couronnes tandis que dans les eaux de Tiko, on note la présence des pathogènes peu virulents.

Le complexe parasitaire à Tiko contient moins de pathogènes du point de vue quantitatif tandis que d'un point de vue qualitatif, le complexe parasitaire de Tiko est plus varié et moins virulents par rapport à ceux de Dia-dia. Les eaux de Dia-dia ont une quantité importante de spores pathogènes par rapport à celle de Tiko ; ceci rejoint les observations de Demoulin (2004) qui y avait également noté une proportion plus élevée en spores pathogènes.

Les pathogènes constituant le complexe parasitaire responsable de la pourriture de couronne au Cameroun par généralisation sont des pathogènes également isolés dans les autres régions du monde où la maladie sévit.

Les *Fusarium* sp. et les *Verticillium theobromae* qui sont les pathogènes les plus fréquemment isolés des eaux des bacs de lavage des bananes (Shillingford, 1976) ont également été isolés dans nos sites d'étude. La présence des pathogènes majeurs de la pourriture des couronnes isolés à partir des couronnes de bananes notamment *Fusarium* sp., *Colletotrichum* sp. et *Verticillium* sp. a été observée (Marin et al. 1996 ; Griffée & Burden, 1976 ; Finlay & Brown, 1993).

Les espèces fréquemment isolées des couronnes de bananes varient en fonction des régions et de périodes de l'année. Au Nigeria ce sont *Botriodiplodia theobromae* et *Colletotrichum musae* (Ogundero, 1987). En Amérique latine, *Cephalosporium* sp., *Verticillium theobromae*, *Fusarium roseum*, *Gloeosporium musarum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium semitectum* et *penicillium* spp. sont fréquemment isolés (Greene et Goos, 1963 ; Lukezic et al., 1967 ; Marin et al., 1996). Dans les îles sous le vent, *Colletotrichum musae* est le plus fréquemment isolé (Wallbridge ; 1981) et est associé au *Fusarium semitectum*, *Verticillium theobromae*, *Fusarium oxysporum* et *Fusarium* spp. (Wallbridge et Pinegar, 1975 ; Griffée et Burden, 1976). En Jamaïque, *Colletotrichum musae*, *Fusarium semitectum*, *Verticillium theobromae* et *Fusarium* spp. (Shillingford, 1976 ; 1978) sont les pathogènes majeurs de la pourriture de couronne.

Au Cameroun, les espèces fréquemment isolées des eaux des bacs de lavage des bananes sont *Penicillium* spp., *Verticillium* sp., *Céphalosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium moniliforme*, *Fusarium* sp. *Trichoderma* sp., *Colletotrichum* sp.

Toutefois les autres espèces composant le complexe parasitaire de la pourriture de couronne dans la littérature ont également été retrouvées au Cameroun.

II. Evaluation du pouvoir pathogène du complexe parasitaire présent dans l'eau des bacs de lavage

Le traitement par l'eau stérile (témoin négatif) entraîne l'apparition de nécroses de faible intensité (en moyenne 62,5 mm²) sur les couronnes de bananes.

On note une augmentation de la surface de nécroses à la semaine 14, suivie d'une baisse en semaine 15 puis elle augmente de nouveau en semaine 16. On ne retrouve pas cette cinétique sur les courbes de *C. musae* et de l'inoculation par l'eau non concentrée de Tiko.

La courbe représentant la variation de la surface de nécroses due à *C. musae* est la plus importante ; la surface moyenne de nécroses est de l'ordre de 317 mm². Elle augmente à la semaine 14 et se stabilise au cours du temps.

La courbe représentant les variations de surfaces de nécroses dues à l'effet du pouvoir pathogène de l'eau non concentrée de Tiko varie très peu. On note une légère diminution à la semaine 14 qui tend à se stabiliser jusqu'à la semaine 16 (Figure 23).

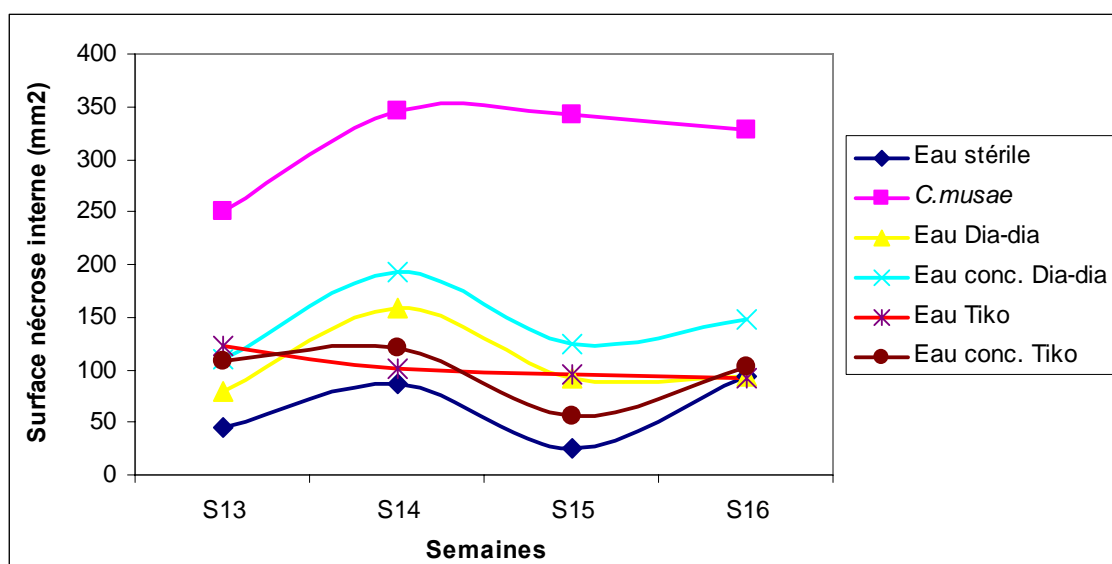


Figure 23 : Evaluation du pouvoir pathogène des eaux de dépaquetage de Dia-dia et de Tiko au cours du temps.

Il n'y a pas de différence significative ($P= 1,000$) entre les eaux non concentrées de Dia-dia et de Tiko qui causent en moyenne de 105 mm² de surface nécrosée. Il n'existe pas de différence significative entre l'eau concentrée de Tiko et les eaux non concentrées des 2 sites ($P<0,9997$).

L'eau concentrée de Dia-dia est significativement différentes de l'eau concentrée de Tiko ($P= 0,2116$) et de l'eau non concentrée des deux sites ($P<0,4025$). La concentration de l'eau de Tiko n'augmente pas son pouvoir pathogène (98 mm² de nécroses) ; tandis qu'on note une augmentation de la surface de couronne nécrosée (144 mm²) dans le cas de Dia-dia (Figure 24).

Nous avons ici quatre groupes de pouvoir pathogène :

- Le premier est constitué de l'eau stérile (témoin négatif).
- Le second est celui de *C. musae*.

- Le troisième est celui constitué par les eaux de lavage de Dia-dia, les eaux de dépattage et de lavage de Tiko.
- Le quatrième groupe est constitué par l'eau de dépattage de Dia-dia.

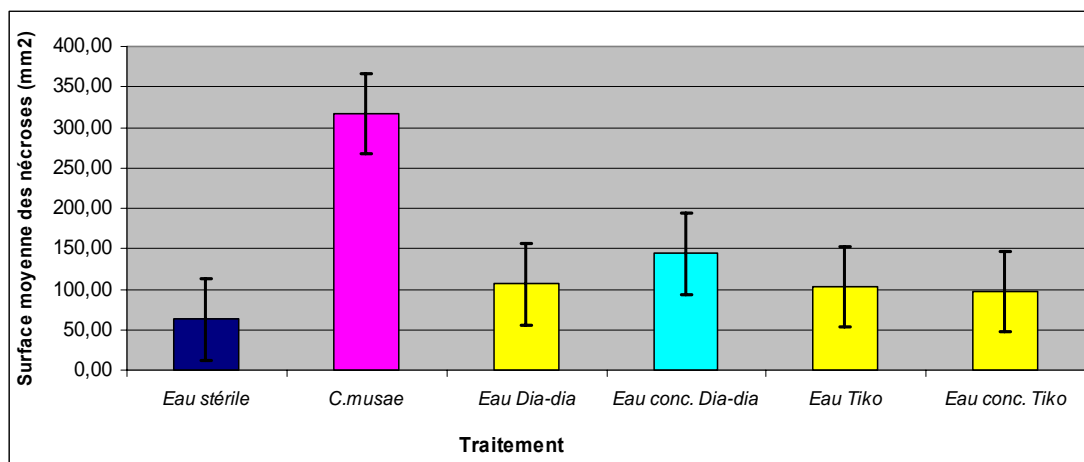


Figure 24 : Surface moyenne et écarts types des nécroses sur les couronnes de bananes à la suite de l'inoculation par les eaux de dépattage non concentrées et concentrées des stations de Dia-dia et Tiko. Les traitements ne présentant pas de différences significatives entre eux sont représentés par la même couleur. La moyenne et l'écart type des témoins sont également représentés.

➤ Discussion

La cinétique de variation des surfaces de nécroses au cours du temps due aux différents traitements est la même. Ainsi, le pouvoir pathogène des eaux de lavage varie peu au cours des 4 semaines d'études considérées et il serait intéressant de mener cette étude sur plusieurs mois afin de rechercher d'éventuelles variations saisonnières.

Le pouvoir pathogène de *C. musae* est de loin supérieur à celui des eaux de dépattage concentrées, non concentrées et du traitement par le témoin négatif. Ceci corrobore avec le fait que *Colletotrichum musae* est considéré comme le plus pathogène des microorganismes responsables de la pourriture de couronne. En effet, une évaluation de la pathogénicité des espèces reconnue par de nombreux auteurs comme les plus pathogènes l'a confirmé comme étant le plus virulent (Finlay & Brown, 1993).

L'apparition de nécroses sur les couronnes de bananes inoculées avec de l'eau stérile est due à des potentielles infections préétablies dans le fruit. En effet, les spores adhèrent à la surface des fruits en champ tels est le cas des appressoria de *Colletotrichum musae* (Muirhead & Deverall, 1981) et certaines sont libérées dans les eaux au cours du lavage (Shillingford, 1976). La soustraction de cet effet à celui de nos différents traitements, nous permet d'obtenir le pouvoir pathogène réel des traitements.

Le pouvoir pathogène des eaux de lavage de Dia-dia et de Tiko est identique. Toutefois la quantité de spores isolées des eaux de dépattage est plus élevée à Dia-dia qu'à Tiko. Ces observations sont identiques à celles de Demoulin (2004) et Kameni (2005) qui ont notés qu'au Cameroun, la quantité totale de spores présentes dans les eaux de station ne traduit pas forcément le niveau de nécroses.

La concentration de l'eau de dépattage n'augmente pas la virulence du pouvoir pathogène de l'eau de dépattage à Tiko contrairement à Dia-dia où cette opération a un effet positif par une augmentation du pouvoir pathogène de cette dernière.

La maladie dépend de la virulence des pathogènes composants le complexe parasitaire. Cette observation rejoint celle de Lassois (2003) qui a évalué le pouvoir pathogène de *Colletotrichum musae* seul et *C. musae* associé à d'autres pathogènes responsables des pourritures de couronne et noté que son pouvoir pathogène diminue quand il est associé à d'autres pathogènes.

Les eaux de dépattage de Dia-dia sont très peu diversifiées bien qu'elles contiennent un grand nombre de spores. Du point de vue qualitatif, l'eau de dépattage de Tiko est plus variée que celle de Dia-dia. La diversité de la microflore de cette eau expliquerait son faible pouvoir pathogène du fait de l'existence des relations antagonistes au sein du complexe parasitaire. Ces observations sont analogues à celles de Krauss *et al.* (2001) qui ont observés que le pouvoir pathogène du complexe parasitaire est inversement proportionnel à sa diversité. Ainsi, plus le complexe est diversifié, plus il y a des relations antagonistes et moins il est virulent.

Le pouvoir pathogène de *C. musae* est très élevé par rapport à celui des autres traitements. Il est 6 et 7 fois plus important que celui des eaux non concentrées et concentrées de Tiko respectivement ; il est 5,5 fois plus élevé que celui de l'eau de Dia-dia et 3 fois plus que celui de son eau concentrée (Figure 25).

En effet, *Colletotrichum musae* est souvent considéré comme le plus pathogène des champignons formant le complexe parasitaire (Finlay & Brown, 1993). Une faible quantité d'inoculum de ce champignon, est capable de provoquer des pourritures de couronne sévères (Greene & Goos, 1963 ; Lukezic *et al.*, 1967 ; Shillingford, 1976 ; Finlay & Brown, 1993).



Figure 25 : Effet des traitements sur l'apparition de la nécrose sur les couronne de bananes (*sens de la flèche* : eau stérile, *C. musae*, eau concentrée de Dia-dia, eau non concentrée de Dia-dia, eau concentrée de Tiko, eau non concentrée de Tiko).

III. Evaluation du pouvoir pathogènes des espèces isolées le plus fréquemment des eaux de lavage des stations d'emballage

Le pouvoir pathogène des espèces les plus récurrentes a été évalué à la semaine 15 (S15) après sept semaines d'isolement.

Les types **1** (*F. moniliforme*), **2** (*Fusarium* sp.), **7** (*Verticillium* sp.), **8** (*Céphalosporium* sp.), **9** (*Cladosporium* sp.), **14** (*Paecilomycès* sp.), **15** (*Pénicillium* sp.) ont été sélectionnés suite aux résultats obtenus au point **I.4**. Notons toutefois le fait que avant la caractérisation moléculaire, le type **14** : *Paecilomycès* était considéré comme type différent du type **15** et assez récurrent.

A l'issue de l'analyse statistique, 5 groupes de pouvoir pathogène ont été identifiés :

- Le pouvoir pathogène *Colletotrichum musae* qui est plus virulent de ces pathogènes avec une moyenne de 333, 20mm² de surfaces de couronnes nécrosées
- Le pouvoir pathogène des types **1** (*F. moniliforme*), **2** (*Fusarium* sp.) et **9** (*Cladosporium* sp.) qui produisent environ 150mm² de nécroses sur les couronnes.
- Les types **7** (*Verticillium* sp.) et **15** (*Penicillium* sp.) ont le même pouvoir pathogène qui est d'une moyenne 107mm² de couronnes nécrosées.
- Le pouvoir pathogène du type **8** (*Céphalosporium* sp.) qui cause des nécroses sur les couronnes de bananes de l'ordre de 99mm².
- Le pouvoir pathogène du type **14** (*Paecilomycès* sp.) qui cause des nécroses sur les couronnes de bananes de l'ordre de 77mm² (Figure 26).

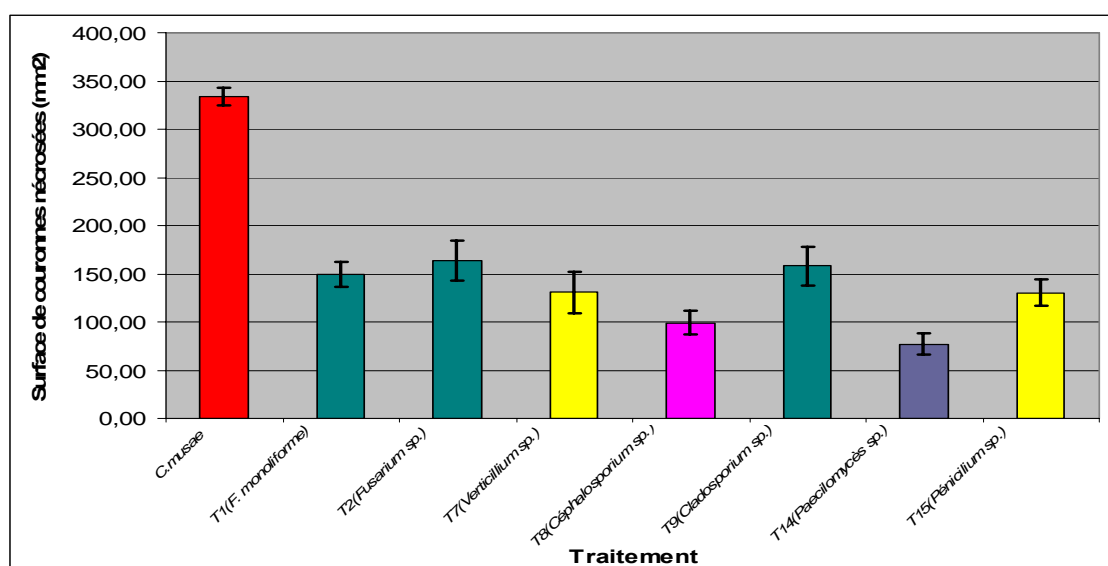


Figure 26 : Surface moyenne et écarts types des nécroses sur les couronnes de bananes à la suite de l'inoculation par les espèces fréquemment isolées des eaux de dépaquetage et de lavage des stations de Dia-dia et Tiko. Les traitements ne présentant pas de différences significatives entre eux sont représentés par la même couleur. La moyenne et l'écart type du témoin sont également représentés.

Il y a une différence significative entre l'effet de *Colletotrichum musae* et celui des autres traitements sur les couronnes inoculées.

➤ Discussion

Le pouvoir pathogène des espèces les plus fréquemment isolées des eaux de dépaquetage et de lavage des bananes en station de conditionnement a été évalué ; il montre que le témoin (*Colletotrichum musae*) est de loin plus pathogène que les autres pathogènes fréquemment isolés des eaux des bacs lavages des 2 stations étudiées (Figure 27).

Ainsi, il cause 2 fois plus de nécroses que *Fusarium moniliforme*, *Fusarium* sp. et *Cladosporium* sp. ; les *Fusarium* sp. sont considérés comme des pathogènes primaires de la maladie des pourritures de couronnes de bananes dans les îles sous le vent (Knight, 1982) et en Amérique latine (Marin *et al.*, 1996). *C. musae* cause en moyenne 2,5 fois plus de nécroses que *Verticillium* sp. qui est quelque fois considérés comme un pathogène majeur de la pourriture de couronnes. *C. musae*. produit 3 fois plus de nécroses sur les couronnes que *Penicillium* sp. et *Céphalosporium* sp. qui sont considérés comme des pathogènes mineurs de la pourriture de couronnes des bananes.

En effet, les types **14** et **15** correspondent à une seule et même espèce qui est le *Penicillium* spp. Ceci entraîne une augmentation de la quantité totale de *Penicillium* isolés des eaux de lavage des stations de conditionnement des bananes au Cameroun, mais entraîne une diminution du pouvoir pathogène de l'espèce.

On obtient ainsi quatre groupe de pouvoir pathogène :

- Le pouvoir pathogène *Colletotrichum musae*
- Le pouvoir pathogène des types **1** (*F. moniliforme*), **2** (*Fusarium* sp.) et **9** (*Cladosporium* sp.)
- Le pouvoir pathogène du type **7** (*Verticillium* sp.)
- Le pouvoir pathogène des types **8** (*Céphalosporium* sp.) et **15** (*Penicillium* sp.) qui causent environ 100mm² des nécroses sur les couronnes des bananes.

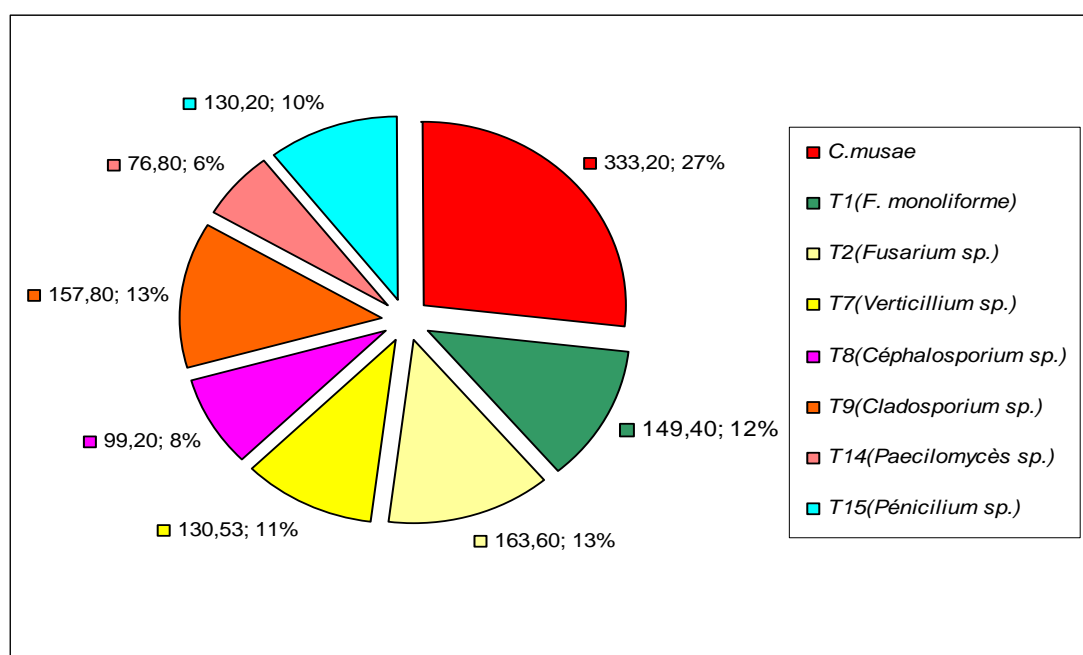


Figure 27: Pouvoir pathogènes des espèces les plus fréquemment isolées des eaux de lavage des bananes au Cameroun évalué en présence d'un témoin (*C. musae*)

La mise en évidence de la virulence de ces espèces se traduit par l'apparition de la nécrose sur les couronnes de bananes. Le pouvoir pathogène pourrait aussi s'évaluer en fonction de l'intensité de la coloration brune et du niveau de destruction des tissus de la couronne. C'est le cas de la nécrose due à *C. musae* où l'on observe une importante surface de couronne colonisée, de coloration brune intense et la destruction des tissus (Figure 28-T1). Ce phénomène a aussi été noté avec moins d'acuité dans le cas des nécroses dues aux *Fusarium* sp. (Figure 28-T3). Chez les espèces au pouvoir pathogène intermédiaire et peu pathogène, les cellules des tissus ont une faible coloration, sont turgescents, et les couronnes conservent leur fermeté et sont moins nécrosées (Figure 28).

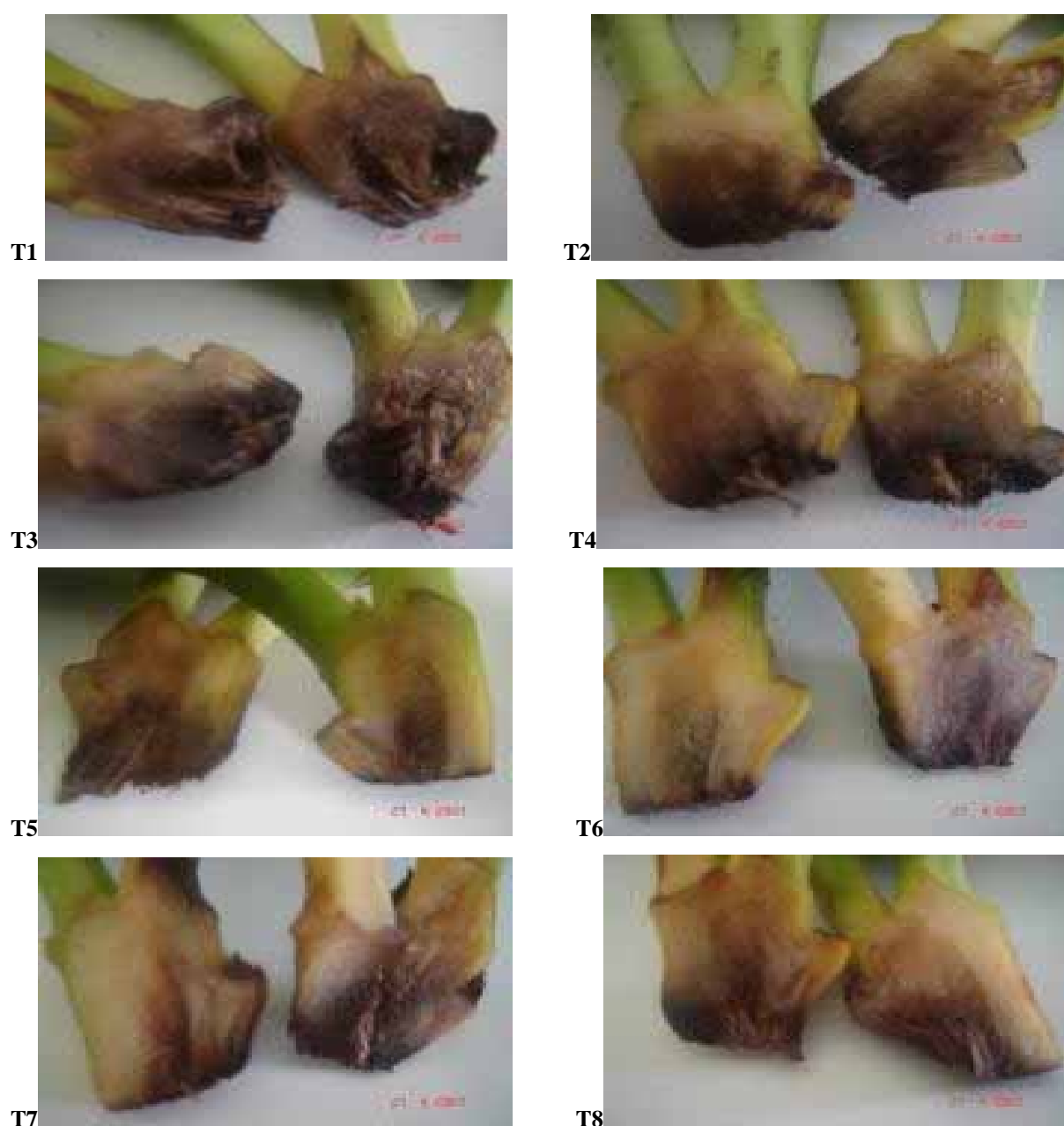


Figure 28: Nécroses des couronnes de bananes dues à la virulence des espèces les plus fréquemment isolées de la microflore des eaux de dépaillage et de lavage des bananes en station de conditionnement à Dia-dia et Tiko. **T** représente le numéro de traitement

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'analyse microbiologique de l'eau des bacs de dépattage et de lavage des stations d'emballage de Dia-dia et de Tiko a été effectuée. Il ressort de cet essai que :

1. Il existe une différence quantitative et qualitative de la composition de la microflore des eaux des bacs de lavage des bananes.
2. Du point de vue quantitatif, les eaux de Dia-dia contiennent plus de spores que celles de Tiko.
3. Ainsi, 300 et 200 spores/ml d'eau prélevée par semaine ont été isolées à Dia-dia respectivement dans les eaux de dépattage et les eaux de lavage ; tandis qu'à Tiko, on note une concentration d'environ 115 spores/ml d'eau prélevée quelque soit le type d'eau.
4. Du point de vue qualitatif, les microorganismes qui constituent le complexe parasitaire de Tiko sont plus diversifiés et moins virulents par rapport à ceux de Dia-dia en référence à la littérature.
5. Les microorganismes isolés des eaux de dépattage et de lavage de Dia-dia et Tiko sont identiques à ceux les plus fréquemment identifiés dans la littérature. Les types *Fusarium* constituent une forte colonie fréquemment isolée des eaux de dépattage et de lavage dans les deux stations considérées.
6. Par globalisation, au Cameroun, les espèces fréquemment isolées des eaux bacs de lavage des bananes sont *Penicillium* spp., *Verticillium* sp., *Céphalosporium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium monoliforme* , *Fusarium* sp. *Trichoderma* sp., *Colletotrichum* sp.

Le pouvoir pathogène des eaux de dépattage de Dia-dia et de Tiko a été évalué en présence de témoins. Il ressort de cette deuxième partie que :

1. L'existence d'infections préétablies dans les tissus de la couronne a été confirmée par l'apparition de nécroses chez les couronnes traitées avec de l'eau stérile.
2. Le pouvoir pathogène de *C. musae* est de loin supérieur à celui des eaux de dépattage concentrées, non concentrées et du traitement par le témoin négatif.
3. Le pouvoir pathogène des eaux de dépattage non concentrées de Dia-dia et de Tiko est identique. La concentration de l'eau de dépattage n'augmente pas la virulence du pouvoir pathogène de l'eau de dépattage de Tiko à l'opposé de Dia-dia.
4. Le faible pouvoir pathogène de l'eau concentrée de Tiko pourrait s'expliquer la diversité de la microflore et l'existence des relations antagonistes au sein du complexe parasitaire.

Il serait intéressant de faire une étude des interactions antagonistes et/ou synergiques au sein du complexe afin de mieux comprendre les interactions entre les microorganismes pathogènes et non pathogènes au niveau de la couronne.

Le pouvoir pathogène des espèces le plus fréquemment isolées des eaux de dépaquetage et de lavage des stations d'emballage a été évalué.

Il ressort de cette troisième partie du travail que :

1. Le pouvoir pathogène du témoin (*Colletotrichum musae*) est de loin plus pathogène que les autres pathogènes fréquemment isolés des eaux des bacs lavages des 2 stations étudiées.
2. Le pouvoir pathogène pourrait aussi s'évaluer en fonction de l'intensité de la coloration de la pourriture et du niveau de destruction des tissus de la couronne. C'est le cas de la nécrose due à *C. musae* et aux *Fusarium* sp. où l'on observe une importante surface de couronne colonisée et la destruction des tissus. Chez les espèces au pouvoir pathogène intermédiaire et peu pathogène, les cellules des tissus ont une faible coloration, sont turgescents et les couronnes conservent leur fermeté.

Il a été observé une relation entre la quantité totale de spores et la pluviométrie (Demoulin, 2004).

Au terme de ce travail, l'ensemble des expériences n'a pas permis d'établir une corrélation entre les variations saisonnières et la composition du complexe parasitaire et/ou le pouvoir pathogène des eaux de lavage.

Ce travail est important dans la mesure où il est le premier de ce type réalisé au Cameroun. La composition du complexe parasitaire responsable des pourritures de couronne de bananes n'était pas connue contrairement à certaines régions.

Une étude approfondie de la caractérisation du complexe de microorganismes responsables des pourritures de couronne sur toute une année semble importante afin de :

- ✓ Rechercher l'existence des variations saisonnières.
- ✓ Déterminer la proportion de contamination des bananes par les eaux des bacs de lavage.
- ✓ Développer de nouveaux outils de pilotage de la désinfection des eaux de station.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Al Zaemey A.B., Magan N. and Thompson A.K. (1993). Studies on the effect of fruit-coating polymers of *Colletotrichum musae* *in vitro* and on post-harvest control of anthracnose of bananas. *Mycological research*. **97**, 1463-1468.

Anselmo E. (2005). Contribution au développement d'une méthode de lutte biologique contre la maladie des pourritures de la couronne de la banane et analyse des variations de sensibilité des bananes à cette maladie dans les conditions du Cameroun. *Travail de fin d'étude*. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. 101 p.

Arias P., Dankers C., Liu P., Pilkauskas P. (2004). L'économie mondiale de la banane 1985-2002. Études FAO (Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture) sur les produits de base 1. 102 p.

Arneson P.A. (1960). Sensitivity of postharvest rot fungi of bananas to chlorine. *Phytopathology*. **61**, 344-345.

Bailey C. (2006). Species boundaries within *Saprolegnia* (Saprolegniales, Oomycota) based on morphological and DNA sequence data. Submitted at Biology and Marine Biology, UNC-Wilmington, USA.

Bakry F., Carreel F., Caruana M.L., Côte F.X., Jenny C. and Tezenas du Montcel H. (1997). In Charrier. A, Hamon S., Jacquot M. and Nicolas D. *L'amélioration des plantes tropicales*. Montpellier CIRAD et ORSTOM. 109-139.

Barnett H.L. & Barry B. Hunter (1998). Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. APS Press. The American Phytopathology Society. St Paul. Minnesota. 182 p.

Bastiaanse H. (2006). Contribution au développement d'une méthode de lutte biologique et analyse des variations de sensibilité de la banane d'exportation du Cameroun à la maladie des pourritures de couronne. *Travail de fin d'étude*. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. 86 p.

Borde I. (2006). LA PCR : *Polymerase chain reaction* ou réaction de polymérisation en chaîne. *Tous droits réservés - Biologie et Multimédia - Université Pierre et Marie Curie - UFR de Biologie*.

Borel E. & Pélegrin P. (1951). La culture du bananier au Cameroun. *Fruits*. **6**, 421-427.

Bugaud C. et Lassoudière A. (2005). Variabilité de la durée de vie verte des bananes en conditions réelles de production. *Fruits*. **60**, 227-236.

Burden O.J. (1968). Reduction of banana anthracnose following hot-water treatment of the green fruit. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences*. **25**, 135-144.

Buzina W., Braun H., Freudenschuss K., Lackner A. and Stammberger H. (2003). Fungal biodiversity as found in nasal mucus. *Med. Mycol.* **41** (2), 149-161.

Carlier J., De Waele D., Escalant J.V. (2003). Evaluation globale de la résistance des bananiers à la fusariose, aux maladies foliaires causées par les *Mycosphaerella spp.* Et aux nématodes. Evaluation de la performance (A. Vézina et C. Picq, eds). Guides techniques INIBAP 7. Réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain, Montpellier, France, 62 p.

Carneiro A.A., Gomes E.A., Nonato L.F., Fernandes F.T., Carneiro N.P., Guimaraes C.T. and Cruz I. (2005). Genotyping Isolates of *Beauveria* Used in The Biological Control of Maize Armyworm *Spodoptera frugiperda* by RAPD and ITS Sequencing. Submitted at Nucleus of Applied Biology, Sete Lagoas, Brazil.

Champion J. (1967). Les bananiers et leur culture, Tome I. Botanique et génétique, 214 p.

Chamara D., Illeperuma K., Theja Galappatty P., Sarananda K.H. (2000). Modified atmosphere packaging of 'Kolikutu' bananas at low temperature. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology (GBR)*. **75**, 92-96.

Chan K.C. (1994). Plant quarantine measures for the movement. *In: Nematode and Weevil Borers affecting Bananas in Asia and the Pacific, Malaysia (INIBAP)*, 18- 22 April 1994, 221-233.

Chase A.R., and Broschat. T.K. (1991). Diseases and disorders of ornamental palms. *Amer. Phytopath. Soc. Press, St.Paul*. 30-32.

Chen Y.Q., Hu B. and Qu L.H. (2003). Molecular phylogeny of the genus *Cordyceps* and its related anamorph. Submitted at Hu B., Zhongshan University, The Engineering Research Centre, Zhongshan University, CHINA.

Chen L.S., Lin C.W., Liu C.D., Chen R.-S. and Tsay J.-G. (2005). Identification of pathogens caused rhizome rot of East Indian lotus. Submitted at Graduate Institute of Biotechnology, National Chiayi University, Taiwan.

Chillet M. (2003). Incidence des conditions de croissance du fruit du bananier (*Musa* spp AAA cv « Grande Naine ») sur sa sensibilité à l'anthracnose de blessure due à *Colletotrichum musae* (Berck. And Curt.) Arx. *Thèse de doctorat*. Université de Montpellier II. 190 p.

Chillet M. & de Lapeyre de Bellaire L. (1996). Elaboration de la qualité des bananes au champ. Détermination de critères de mesure. *Fruits*. **51**, 317-326.

Chillet M., Hubert O. and de Lapeyre de Bellaire L. (2006). Relationship between ripening and the development of banana anthracnose caused by *Colletotrichum musae* (Berck. And Curt.) Arx. *Journal of Phytopathology*. **154**, 143-147.

Chillet M., de Lapeyre de Bellaire L., Dorel M., Joas J., Dubois C., Marchal J. and Perrier X. (2000). Evidence for the variation in susceptibility of bananas to wound anthracnose due to *Colletotrichum musae* and the influence of edaphic conditions. *Scientia Horticulturae*. **86**, 33-47.

Chouiter, R., Roy, I., Chitrandon, L. and Bucke, C. (2006). Phylogenetic relationships between Basidiomycetes belonging to the class Hymenomycetes, based on distance analysis of their 5.8S, ITS1 and ITS2 rDNA sequences. Submitted at Molecular and Applied Biosciences, University of Westminster, London, UK.

CIRAD (2003). Manuel du planteur Guadeloupéen. Fiches techniques.

Cooper J.A. (2006). Mitosporic Fungi of New Zealand. Submitted at Landcare Research, Canterbury, New Zealand.

Crous P.W., Groenewald J.Z., Wingfield M.J. and Aptroot A. (2003). The value of ascospore septation in separating *Mycosphaerella* from *Sphaerulina* in the Dothideales: a Saccardoan myth. Submitted at Centraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands.

Daudin J. (1953). Epistillage des régimes de bananes sur pied. *Fruits*. **8**, 488-489.

De Costa D.M. and Subasinghe S.S.N.S (1998). Antagonistic bacteria associated with the fruit skin of banana in controlling its postharvest diseases. *Tropical Science*. **38**, 206-212.

de Lapeyre de Bellaire L. (1999). Bio-écologie de *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx, agent de l'anthracnose des bananes, dans les conditions tropicales humides de la Guadeloupe. *Thèse de doctorat*. Université de Paris-Sud. 100 p.

- de Lapeyre de Bellaire L., Chillet M. and Mourichon X. (2000).** Importance of different sources of inoculum and dispersal methods of conidia of *Colletotrichum musae*, the causal agent of banana anthracnose, for fruit contamination. *Plant pathology*. **49**, 782-790.
- de Lapeyre de Bellaire L. et Dubois C. (1997).** Distribution of thiabendazole-resistant *Colletotrichum* isolates from Guadeloupe banana plantations. *Plant disease*. **81**, 1378-1383.
- de Lapeyre de Bellaire L. and Mourichon X. (1997).** The pattern of fungal contamination of the banana bunch during its development and potential influence on incidence of crown-rot and anthracnose diseases. *Plant Pathology*. **46**, 481-489.
- Delvaux B., Lassoudière A., Perrier X., Marchal J. (1986).** Une méthodologie d'étude des relations sol-plante-techniques culturales par enquête diagnostic. Application à la culture bananière au Cameroun. Synthèse des résultats. *Fruits*. **41**, 359-370.
- Demoulin G. (2004).** Etudes des facteurs influençant le développement des pourritures de la couronne sur bananes export du Cameroun et contribution à la mise au point d'un moyen de lutte alternative. *Travail de fin d'étude*. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. 78 p.
- Desnos-Ollivier M., Bretagne S., Dromer F., Lortholary O. and Dannaoui E. (2006).** Molecular identification of black-grain *mycetoma* agents. *J. Clin. Microbiol.* **44** (10), 3517-3523.
- Durand G. & Frezet S. (2003).** Biologie moléculaire en routine de laboratoire. 31p.
- Eckert & Ogawa (1985).** The chemical control of postharvest diseases: subtropical and tropical fruits. *Annual review of phytopathology*, **23**, 421-454.
- Finlay A.R. and Brown A.E. (1993).** The relative importance of *Colletotrichum musae* as a crown rot pathogen on Windward Island bananas. *Plant Pathology*. **42**, 67-74.
- Finlay A.R., Lubin C. and Brown A.E. (1992).** The banana stalk as a source of inoculum of fungal pathogens which cause crown rot. *Tropical Science*. **32**, 343-352.
- Furukawa T., Ono Y. and Kishi K. (2006).** Gummy stem blight of balsam pear Caused by *Didymella bryoniae* (Auerswald) Rehm and its anamorph *Phoma cucurbitacearum* (Fries: Fries) Saccardo. Submitted at Yasunori Ono, Sankyo, Co., LTD., Core Technology Research Laboratories; Miyukigaoka, Japan.
- Furukawa T., Ono Y., Ushiyama K. and Kishi K. (2006).** *Phomopsis berberidis* genes for SSU rDNA, ITS1, 5.8S rDNA, ITS2, LSU rDNA, partial and complete sequence. Submitted Yasunori Ono, SANKYO, Co., LTD., Core Technology Research Laboratories; Hiromachi, Tokyo.
- Garand C. (1996).** Caractérisation génétique des regions ITS des *Phytophthora* spp. Qui causent le pourridé des racines du framboisier au Québec. Mémoire de Maîtrise. Université de Laval. 91p.
- Gardes M. and Bruns T.D. (1993).** Primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* **2**, 113-118.
- Garofalo J.F. (1999).** *Thielaviopsis* bud rot of palm. Publications for the horticulture professionals of Miami-Dade County. **22**. University of Florida.
- Geiser D.M., Ivey M.L., Hakiza G., Juba J.H. and Miller S.A. (2005).** *Gibberella xylarioides* (anamorph: *Fusarium xylarioides*), a causative agent of coffee wilt disease in Africa, is a previously unrecognized member of the *G. fujikuroi* species complex. *Mycologia* **97**, 191-201.

- Gilbert G.S. and Webb C.O. (2007).** Phylogenetic signal in plant pathogen-host range. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104** (12), 4979-4983.
- Gilbert G.S., Garbelotto M., Chapela I., Moeller C. and Dreyfuss M.M. (2002).** Biogeography of leaf litter fungi Direct Submission. Submitted at Environmental Studies, University of California, Santa Cruz, USA.
- Gooding P.S. Bird C. and Robinson S.P. (2001).** Molecular cloning and characterisation of banana fruit polyphenol oxidase. *Planta* (DEU), **213** (5), 748-757.
- Gowen S.R. (1995).** Pest. In: Bananas and Plantain (Ed. Gowen, S.R.) INIBAP Chapman and Hall, London, UK, 282-402.
- Greene G.L. and Goos R.D. (1963).** Fungi associated with crown rot of boxed banana. *Pythopathology*. **53**, 271-275.
- Griffie P.J. (1976).** Pathogenicity of some fungi isolated from diseased crowns of banana hands. *Phytopathologische Zeitschrift*. **85**, 206-216.
- Griffie P.J. and Burden O.J. (1976).** Fungi associated with crown rot of boxed bananas in the Windward Islands. *Phytopathologische Zeitschrift*. **85**, 149-156.
- Haugland R.A., Varma M., Wymer L.J. and Vesper S.J. (2004)** Quantitative PCR analysis of selected *Aspergillus*, *Penicillium* and *Paecilomyces* species. *Syst. Appl. Microbiol.* **27** (2), 198-210.
- Hirooka Y., Kobayashi T., Natsuaki K.T. and Aoki T. (2006).** *Neonectria amamiensis* and *Cylindrocarpon amamiense*, a new nectrioid fungus and its *sporodochial* anamorph on *Pinus luchuensis* from Japan *Mycoscience* **47**, 248-256
- Hofstetter V. and Lutzoni F. (2006).** Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*. **443** (7113), 818-822.
- Hostachy B., Vegh I., Leroux P., Jacquemot E., Foucher S. et Pigou R. (1990).** Bananes de martinique : Incidence des problèmes fongiques sur la qualité. *Phytoma*, **420**, 37-43.
- Hu, M.Y., Gao, Y., Zhong, G.H., Liu, C.L., Liu, X.Q. and Zhang, X.Y. (2007).** Biodegradation of chlorpyrifos by *Cladosporium* strain Hu01 in pure culture. Submitted at College of Natural Resource and Environment, South China Agricultural University, China.
- Jeger M.J., Eden-green S., Thresh J.M., Johanson A., Waller J.M., Brown A.E. (1995).** Banana disease. In: Bananas and Plantains (Ed. Gowen, S.R.). INIBAP, Chapman and Hall, London, UK, 317-382.
- Jeng R. and Dumas M. (1995).** Direct Submission at Forestry University of Toronto, Canada.
- Joas J. (1997).** Programme qualité de la banana d'exportation. Rapport d'essai sur l'emploi des U.V. en post-récolte. *CIRAD, Document interne*.
- John & Marchal (1995).** Ripening and biochemistry of the fruit. In: Gowen, S. (ed.) *Bananas and Plantain*. Chapman and Hall, London, UK, 434-467.
- Jones D.R. (2000).** Fungal disease of foliage. In : Jones D.R. *Diseases of bananas, abacá and enset*. CABI Publishing. 97-104.
- Jones D.R. & Stover R.H. (2000).** Fungal disease of banana fruits: Preharvest diseases. In : Jones D.R. *Diseases of bananas, abacá and enset*. CABI Publishing. 173-189.

Kameni D.Y.C. (2005). Analyse de la composante fongique des eaux de lavage des stations de conditionnement des bananes au Cameroun. *Mémoire de maîtrise*. Université de Douala. 80 p.

Kanapathipillai V.S., Ahmad R. and Mahamad M.I. (1987). The effect of sterile filtrates of *Trichoderma spp.* And *Penicillium spp.* and irradiation on the spore germination of *Colletotrichum musae*. In Singh K.G., Manalo P.L., Sastrontomo S.S., Chan K.C., Lim L.G., Ganapathi A.N., Rahim M.A.A., Durai P.S.S. and Doss M.C. *Movements of pests and control strategies*. Kuala Lumpur, Malaysia, ASEAN Plant and Quarantine Centre and Training Institute. 283-292.

Kanazawa K. and Sakakibara H. (2000). High content of dopamine, a strong antioxidant, in 'Cavendish' banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (USA)*, **48** (3), 844-848.

Knight C. (1982). Pathogenicity of some fungi associated with crown rot of banana. *Phytopathologische Zeitschrift*. **104**: pp. 13-18.

Knight C., Cutts D.F and Colhoun J. (1977). The role of *Fusarium semitectum* in causing crown rot of bananas. *Phytopathologische Zeitschrift*. **89**, 170-176.

Krauss U., Bidwell R. and Ince J. (1998). Isolation and preliminary evaluation of mycoparasites as biocontrol agents of crown rot of banana. *Biological control*. **13**, 111-119.

Krauss U. and Johanson A. (2000). Recent advances in the control of crown rot of banana in the Windward Islands. *Crop Protection*. **19**, 151-160.

Krauss U., Matthews P., Bidwell R., Hocart M. and Anthony F. (2001). Strain discrimination by fungal antagonists of *Colletotrichum musae*: implication for biocontrol of crown rot of banana. *Mycological research*. **105**, 67-76.

Lassois L. (2003). Contribution à la mise au point d'une méthode de lutte biologique contre la maladie des pourritures de la couronne de la banane. *Travail de fin d'études*. Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. 85 p.

Le courrier du CRBP (1997). Zonage et caractérisation des sols des zones d'intervention du CRBP dans le Sud-Ouest Camerounais. **55**, 4-7.

Le poivre P. (1989). Epidémiologie des maladies parasitaires des végétaux. In Semal J. *Traité de phytopathologie végétale*. Les presses Agronomiques de Gembloux (Gembloux). 621p.

Lin X., Huang Y. and Zheng Z. (2007). Endophytic fungi from pharmaceutical plant, *Annona squamosa* L.: Isolation, bioactivity, identification and diversity of polyketide synthase gene. Submitted at School of Life of Science, Xiamen University, Xiamen, China.

López-Cabrera J.J. and Marrero-Domínguez A. (1998). Used of hot water dips to control the incidence of banana crown rot. In *Proceedings of the first International Symposium on Banana in the Subtropics*. Spain. 563-569.

Lukezic F.L., Kaiser W.J., and Martinez M.M. (1967). The incidence of crown rot of boxed bananas in relation to microbial populations of the crown tissue. *Canadian Journal of Botany*. **45**, 413-421.

Luna-Conde M.J. (2003). Marine Fungi as Producers of New Cyclic Peptides with Cytotoxic Activity. Thesis Universidad de Leon, Departamento de Biología Celular y Anatomía, Campus de Vegazana s/n, Leon, Spain, In press.

Mahdi L.E. and Donachie S.P. (2006). A Survey of Hawaiian Marine Fungi and Yeast. Submitted at Microbiology, University of Hawaii, Manoa, USA.

Marin D.H.; Sutton T.B.; Blankenship S.M.; Swallow W.H. (1996). Pathogenicity of fungi associated with crown rot of bananas in Latin America on Grande Naine and disease-resistant hybrid bananas. *Plant Disease*. **80**, 525-528.

Matheny P.B., Wang Z., Binder M., Curtis J.M., Lim Y.W., Henrik, Nilsson R., Hughes K.W., Hofstetter V., Ammirati J.F., Schoch C.L., Langer E., Langer G., McLaughlin D.J., Wilson A.W., Froslev T., Ge Z.W., Kerrigan R.W., Slot J.C., Yang Z.L., Baroni T.J., Fischer M., Hosaka K., Matsuura K., Seidl M.T., Vauras J. and Hibbett D.S. (2007). Contributions of rpb2 and tef1 to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi). *Mol. Phylogenet. Evol.* **43** (2), 430-451

Martoredjo T. (1995). Virulency of some *Colletotrichum musae* to banana fruits and resistancy of some banana cultivars fruit to *Colletotrichum musae*. *Journal of Plant Protection*. **1**, 33-37.

Maxwell A., Jackson S.L., Dell B. and Hardy G.E. (2005). PCR-identification of *Mycosphaerella* species associated with leaf diseases of Eucalyptus. *Mycol. Res.* **109** (PT 9), 992-1004.

Mbida C.M., Doutrelepont H., Vrydaghs L., Beeckman H., Swennen R.L., Swennen R.J., De Langhe E. et Maret P. (2005). Oui, il y avait bien des bananiers au Cameroun il y a 2000 ans. *InfoMusa*, **13**, 40-42.

Menkis A., Allmer J., Vasiliauskas R., Lygis V., Stenlid J. and Finlay R. (2004). Ecology and molecular characterization of dark septate fungi from roots, living stems, coarse and fine woody debris. *Mycol. Res.* **108** (PT 8), 965-973.

Meredith D.S. (1971). Transport and storage disease of bananas: biology and control. *Tropical agriculture*. **48**, 35-50.

Mondal A.H. and Parbery D.G. (1992). The spore matrix and germination in *Colletotrichum musae*. *Mycological research*. **96**, 592-596.

Morakotkarn D., Kawasaki H. and Seki T. (2006). Molecular diversity of bamboo-associated fungi isolated from Japan. *Microbiol. Lett.* In press.

Mouen Bedimo J., Chillet M. et de Lapeyre de Bellaire L. (2003). Le gainage précoce des régimes de bananes améliore la croissance des fruits et leur état sanitaire vis-à-vis de l'anthracnose (*Colletotrichum musae*). *Fruits*. **58**, 71-81.

Muirhead I.F. and Deverall B.J. (1981). Role of appressoria in latent infection of banana fruits by *Colletotrichum musae*. *Physiological Plant Pathology*. **19**, 77-84.

Muirhead I.F. and Deverall B.J. (1984). Evaluation of 3,4-dihydroxybenzaldéhyde, dopamine and its oxidation products as inhibitors of *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx. in green banana fruits. *Australian Journal of Botany*. **32**, 375-382.

Muirhead I.F. and Jones D.R. (2000). Postharvest diseases. In Jones D.R. *Diseases of bananas, abacá and enset*. CABI Publishing. 190-211.

Murat C., Vizzini A., Bonfante P. and Mello A. (2005). Morphological and molecular typing of the below-ground fungal community in a natural *Tuber magnatum* truffle-ground. *Microbiol. Lett.* **245** (2), 307-313.

Mwangi P.W., White J.F. Jr. and Sullivan R.F. (2007). Isolation and characterization of fungal and bacterial endophytes from Garlic mustard (*Alliaria petiolata*) and Black mustard (*Brassica nigra*). Submitted at *Plant Biology & Pathology*. Rutgers University, New Brunswick, USA.

Nagy V., Seidl V., Szakacs G., Komon-Zelazowska M., Kubicek C.P. and Druzhinina I.S. (2006). Application of DNA BarCodes for screening of industrially important fungi: the haplotype of *Trichoderma harzianum* sensu stricto indicates superior chitinase formation. Submitted at Division of Gene Technology and Applied Biochemistry (DGTAB), Institute of Chemical Engineering, Vienna University of Technology, Austria.

O'donnell K., Sarver B.A., Brandt M., Chang D.C., Noble-Wang J., Park B.J., Sutton D.A., Benjamin L., Lindsley M., Padhye A., Geiser D.M. and Ward T.J. (2007) Phylogenetic diversity and microsphere array-based genotyping of human pathogenic fusaria, including isolates from the multistate contact lens-associated u.s. Keratitis outbreaks of 2005 and 2006 *J. Clin. Microbiol.* **45** (7), 2235-2248.

Ogundero V.W. (1987). Crown rot of Nigerian bananas cv. Robusta and the effects of benomyl on their exo- enzymes. *Journal of Basic Microbiology.* **27**, 43-47.

Oh S.K., Kamdem D.P. and Han K.H. (2001). Species Identification in Wood-Decaying Fungi. Submitted at Forestry, Michigan State University, East Lansing, USA.

Pacico R. (2001). Influence d'atmosphères modifiées obtenues à l'aide de polybags sur la pathologie du complexe de la maladie de la pourriture de la couronne. *Travail de fin d'études.* Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. 81 p.

Phytosanitairemment votre (2006). Journal d'information de la Direction de l'Agriculture et de la Forêt – Service de la Protection des Végétaux. Edition Guyane.

Ploetz R.C. & Pegg K.G. (2000). Fungal diseases of root, corm and pseudoterm: Fusarium Wilt. In Jones D.R. *Diseases of bananas, abacá and enset.* CABI Publishing. p143.

Ploetz R.C., Zentmyer G.A., Nishijima W.T., Rohrbach K.G. and Ohr H.D. (1994). Compendum of Tropical Fruit Diseases. *APS Press*, 4-9.

Postmaster A., Kuo J., Sivasithamparam K. and Turner D.W. (1997). Interaction between *Colletotrichum musae* and antagonistic microorganisms on the surface of banana leaf discs. *Scientia Horticulturae.* **71**, 113-125.

Promptutha I., Jeewon R., Lumyong S., McKenzie E.H.C. and Hyde K.D. (2005). Ribosomal DNA fingerprinting in the identification of non sporulating endophytes from *Magnolia liliifera* (Magnoliaceae). *Fungal Divers.* **20**, 167-186.

Qu L., Tian L. and Sun X. (2006). Molecular and morphological phylogenetic analysis of fungi isolated from Yellow sea. Submitted at Marine Biology, First Institute of Oceanography, China.

Ragazzi A.; Turco E. (1997). Antagonistic effects of some fungi of banana against *Colletotrichum musae*. *Zeitschrift fur Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz.* **104**, 281-288

Ranasinghe L., Jayawardena B. and Abeywickrama K. (2002). Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Zyzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M. Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. *Applied Microbiology.* **35**, 208-211.

Ranasinghe L., Jayawardena B. and Abeywickrama K. (2005). An integrated strategy to control post-harvest decay of Embul banana by combining essential oils with modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Science and Technology.* **40**, 97-103.

Reyes M.E.Q., Nishijima W. And Paul R.E. (1998). Control of crown rot in “Santa Catarina Prata” and “Williams” banana with hot water treatments. *Postharvest Biology and Technology.* **14**, 71- 75.

- Romberg M.K. and Davis R.M. (2005).** Phylogeny of *Fusarium solani* f. sp. *eumartii* isolates from potato and tomato in California based on DNA sequences and vegetative compatibility. Submitted at *Plant Pathology*, University of California, Davis, One Shields Avenue, Davis, CA 95616, USA.
- Romphophak T., Siriphanich J., Promdang S. and Ueda, Y. (2004).** Effect of modified atmosphere storage on the shelf life of banana 'Sucrier'. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* (GBR), **79** (4), 659-663.
- Rubini M.R., Silva-Ribeiro R.T., Pomella A.W.V., Maki C.S., Araujo W.L., dos Santos D.R. and Azevedo J.L. (2005).** Diversity of endophytic fungal community of cacao (*Theobroma cacao* L.) and biological control of *Crinipellis perniciosa*, causal agent of Witches' Broom. *Disease Int. J. Biol. Sci.* **1**, 24-33.
- Ruibal C., Platas G. and Bills G. (2004).** Isolation and characterization of melanized fungi from limestone formations in Mallorca Direct Submission. Submitted at Fungal Resources, CIBE Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Madrid, Spain.
- Samson R.A., Hoekstra E.S. and van Oorschot C.A.N. (1984).** Introduction to food-borne fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands.
- Sarah J.L. (2000).** Nematode pathogen : Burrowing Nematode. In : Jones D.R. *Diseases of bananas, abacá and enset*. CABI Publishing. p295.
- Scorzetti G., Fell J.W., Fonseca A. and Statzell-Tallman A. (2002).** Systematics of basidiomycetous yeasts: a comparison of large subunit D1/D2 and internal transcribed spacer rDNA regions. *FEMS Yeast Res.* **2** (4), 495-51.
- Sela-Buurlage M.B., Epstein L. and Rodriguez R. J. (1991).** Adhesion of ungerminated *Colletotrichum musae* conidia. *Physiological and Molecular Plant Pathology.* **39**, 345-352.
- Semal J. (1989).** Traité de pathologie végétale. Les presses Agronomiques de Gembloux (Gembloux). 621p.
- Shillingford C.A. (1978).** Occurrence of banana fruit-rot fungi in jamaican boxing plants. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico.* 45-49.
- Shillingford C.A. (1977).** Control of banana fruit rots and of fungi that contaminate washing water. *Tropical Science.* **19**, 197-203.
- Shillingford C.A. (1976).** Occurrence of banana fruit-rot fungi in jamaican boxing plants. *Plant disease reporter.* **60**, 788-793.
- Simon S. (1993).** Les ravageurs du bananier dans les Antilles françaises. *Infomusa* (FRA). **2**, p 8.
- Simmonds J.H. and Mitchell R.S. (1940).** Black end and anthracnose of the banana. *Commonwealth of Australia. Council for Scientific and Industrial Research.* **131**, 63 p.
- Slabaugh W.R. and Grove M.D. (1982).** Postharvest diseases of bananas and their control. *Plant disease.* **66**, 746-750.
- Stover R.H., Simmonds N.W., (1987).** *Bananas*. Longman, London, UK, pp 468.
- Swennen R. et Vuylsteke D. (2001).** Bananier. In Raemaekers R. H. *Agriculture en Afrique tropicale*. DGIC. 611- 636.
- Swinburne T.R. and Brown A.E. (1983).** Appressoria development and quiescent infections of banana fruit by *Colletotrichum musae*. *Transactions of the British Mycological Society.* **80**, 176-178.

- Tagu D. & Moussard C. (2003).** Principes des techniques de biologie moléculaire. 2^{ème} Edition INRA revue et argumenté. 176p.
- Temple L. et Owona I. (1999).** Impact des variations du marché de la banane sur les revenus, l'emploi et la sécurité alimentaire au Cameroun. *Rapport final*. CIRAD. 27 p.
- Tezenas du Montcel H. (1985).** *Le bananier plantain*. ACCT et CTA. Edition Maisonneuve et Larose. 144 p.
- Thompson A.K. (1998).** Controlled atmosphere storage of fruits and vegetables. Wallingford, CAB International, 278 p.
- Tian M.L., Tan G.X. and Huang Y.B. (2006).** Molecular systematic studies on Chinese waxy corn. Submitted at Sichuan Agricultural University, The Maize Research Institute, P.R.China.
- Tyagi M., Arvind M., Kayasata and Sinha (1998).** The role of phenolic and peroxidase in resistance to *Alternaria triticina* in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L). *J. Agronomy & Crop Science*. **181**, 29-34.
- Vega F.E., Posada F., Peterson S.W., Gianfagna T.J. and Chaves F. (2005).** *Penicillium* species endophytic in coffee plants and ochratoxin. A production Submitted at Microbial Genomics and Bioprocessing Unit, National Center for Agricultural Utilization Research, USA.
- Vijaya S., Kanapathipillai F., Abdullah and Idris J. (2000).** Germination and infection studies of isolates of *Colletotrichum musae* from two varieties of bananas. In Wahad Z. et al., *Proceedings of the first national banana seminar at Awana*. Genting and country resort. UPM Serdang (MYS). 269-274.
- Wade N.L., Kavanagh E.E. and Sepiah M. (1993).** Effects of modified atmosphere storage on banana postharvest diseases and the control of bunch main-stalk rot. *Postharvest Biology and Technology*. **3**, 143-154
- Waldrop M.P., Zak D.R. and Blackwood C.B. (2006).** Resource availability controls soil microbial diversity across a plant diversity gradient. Submitted at School of Natural Resources and Environment, University of Michigan, USA.
- Wallbridge A. (1981).** Fungi associated with crown-rot disease of bananas from the Windwards Islands during a two year survey. *Transactions of the British Mycological Society*. **77**, 567-577.
- Wallbridge A. and Pinegar J.A. (1975).** Fungi associated with crown-rot disease of bananas from St. Lucia in the Windwards Islands. *Transactions of the British Mycological Society*. **64**, 247-254.
- Walker M.G. (1998).** Yeast physiology and biotechnology. *John Wiley and Sons Ltd*. England. 350 p.
- Waller J.M. (1972).** Water borne dispersal in coffee berry disease and its relation to control. *Annals of Applied Biology*. **71**, 1-18.
- Wang G., Li Q. and Yoon S.-H. (2006).** Diversity of microbes associated with the invasive Hawaiian sponge *Mycale armata*. Submitted at Oceanography, University of Hawaii at Manoa, USA.
- Wang D.-M. and Yao Y.-J. (2006).** British species of *Ganoderma* - characterization based on morphological and molecular data. Submitted at Systematic Mycology and Lichenology Laboratory, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, P.R.China.

Wardlaw C.W. (1931). Banana diseases. 3. Notes on the parasitism of *Gloeosporium musarum* Cke & Mass. *Tropical Agriculture*. **8**, 327-331.

Watling R. and Martin M.P. (2003). A sequestrate *Psilocybe* from Scotland. *Bot. J. Scotl.* **55**, 245-257.

White T.J., Bruns T. Lee S. and Taylor J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. M.A. Innis, D.H.J. Gelfan, J. Sninsky and T.J. White, Eds. Academic Press, San Diego, CA. 315-322.

Wills R., McGlasson W.B., Graham D. and Joyce D.C. (1998). Postharvest. An introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. Wallingford, CAB International. 262 p.

Wirsel S.G.R., Leibinger W., Ernst M. and Mendgen K.W. (2001). Genetic diversity of fungi closely associated with common reed. *New Phytol.* **149**, 589-598.

Yanez-Morales M.J., Alanis-Martinez I. and Melo-Sanguino L. (2005). Molecular characterization of several fungi isolates from *Rosa* sp. Submitted at Plant Pathology, Colegio de Postgraduados, Instituto de Fitosanidad, Montecillo-Texcoco, Mexico.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition des milieux de culture

Milieu Mathur modifié pour la croissance et la sporulation de *C. musae*

Pour 1 litre de milieu :

- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 2,5g
- KH_2PO_4 : 2,7g
- Peptone : 1g
- Extrait de levure : 1g
- Saccharose: 10g
- Agar: 15g

Milieu PDA

Pour 1 litre de milieu :

- 39g/l de poudre d'agar et de dextrose de pomme de terre

Annexe 2 : Traitement des eaux en stations de conditionnement

GESTION ET TRAITEMENT DE L'EAU DANS LES STATIONS D'EMBALLAGE

1° Renouvellement de l'eau.

- L'eau des bacs de décantation est renouvelée une fois par mois.
- L'eau des bacs de dépaillage, de triage et de BHS est renouvelée une fois par semaine. Ce renouvellement peut se faire bac par bac au cours de la semaine.

2° Traitement au sulfate d'alumine (ALUN).

Le sulfate d'alumine sert à faire flocculer le latex pour favoriser sa décantation. Sa concentration doit rester constante à 80 mg/litre d'eau. La consommation est estimée à 80 g par palette.

Consommations :

- lors des renouvellements de l'eau (mensuels pour le bac de décantation, hebdomadaires pour les bacs de dépaillage, triage et BHS) on apporte :

0,8 Kg d'ALUN pour 10 m³

- journallement, on apporte dans le caniveau de récupération de l'eau :

1,0 Kg d'ALUN pour 12 palettes emballées

3° Traitement à l'hypochlorite de calcium.

L'hypochlorite de calcium dégage du chlore actif au contact de l'eau. Le chlore permet d'éliminer les bactéries et la matière organique. La concentration initiale est de 20 g / m³ d'eau. La consommation journalière est fonction du débit de la pompe. Elle est estimée à 3,5 g / m³ / heure.

Consommations :

- Lors des renouvellements de l'eau on apporte

200 g d'hypochlorite pour 10 m³ d'eau

- On calcule la consommation journalière en fonction du débit de la pompe. La base de calcul est de :

35 g d'hypochlorite pour 10 m³ par heure

Actuellement la plupart des pompes de recyclage débitent en moyenne 60 m³/heure soit une consommation théorique de 2100 Kg d'hypochlorite par journée de 10 heures. Les apports dans les bacs se font soit 1 fois par jour sous forme de galets, soit 3 fois par jour sous forme de poudre (matin – midi – milieu d'après-midi).

Les tableaux ci-joints établissent les apports ALUN et d'HYPOCHLORITE pour chaque station en fonction du volume des bacs, de la présence ou non de bacs de décantation et du débit des pompes.

Nyombé 24 août 2004

Ph. MELIN

Gestion et Traitement de l'eau

STATION DIA DIA

Bacs	Volume m3	Apports d'Alun en Kg			Apports d'hypochlorite en g			
		Mensuel	Hebdo	Chaque 12 palettes	Mensuel	Hebdo	Journalier galets (1)	3 x jour poudre (1)
Décantation	176	14			3 500			
BHS	18		1,5			350		
Dépattage	55		4,5			1 100	800	250
Triage 1	24		2,0			500	300	100
Triage 2	24		2,0			500	300	100
Triage 3	24		2,0			500	300	100
Triage 4	24		2,0			500	300	100
TOTAL	345	14	14,0	1,0	3 500	3 450	2 000	650
Moyenne mensuelle pour 25 jours et 750 palettes		14	60	60	3 500	14 800	50 000	
		135 Kg			70 Kg			

(1) l'une ou l'autre forme d'apport suivant disponibilités

Ph. MELIN

Le 25 août 2004

Annexe 3 : Récapitulatif d'isolement au cours des 9 semaines d'essai

SEMAINES	EAU DE DEPATTAGE (ED) DIA-DIA									Som. ED Dia-dia
	26-févr	16-mars	23-mars	26-mars	02-avr	09-avr	14-avr	16-avr	23-avr	
	S8	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	
TYPE 1= <i>Fusarium moniliforme</i>	48	50	8	23	1	30	31	5	7	203
TYPE 2= <i>Fusarium ?</i>	6	10		10	3	36	15	9	6	95
TYPE 3= <i>Fusarium solani</i>	2		1	4	1				1	9
TYPE 4= <i>Fusarium oxysporum</i>	4			5		2				11
TYPE 5= <i>Fusarium larvanum</i>	1			3	3					7
TYPE 6= <i>Colletotrichum</i>	6	10		1	2	2				21
TYPE 7= <i>Verticillium</i>	20	82		251	99	350	211	71	1	1085
TYPE 8= <i>Céphalosporium</i>	92	94	105		10	31		38	66	436
TYPE 9= <i>Cladosporium</i>			42	9	7	24	13	6	13	114
TYPE 10= <i>Gliocladium</i>										0
TYPE 11= <i>Géotrichum</i>						2				2
TYPE 12= <i>Trichoderma</i>							1		3	4
TYPE 13= <i>Aspergillus</i>		6		3				1		10
TYPE 14= <i>Paecilomycès</i>		2		4				2		8
TYPE 15= <i>Pénicillium</i>	156	68	112	93	24	98	34	11	26	622
TYPE 16= <i>Stilbum</i>		2								2
TYPE 17= <i>Streptomycès</i>	4			2						6
TYPE 18= <i>Curvularia</i>										0
TYPE 19= <i>Nigrospora</i>										0
TYPE 20, blanc ras, pt noir						3	2	3		8
TYPE 21,T43				1						1
TYPE 22,chaine									1	1
TYPE 23,blanc ras imbriqués									1	1

TYPE 24,blanc filamenteux	1									1
TYPE 25, T3	1									1
TYPE 26,T13	1									1
TYPE 27, T14	1									1
TYPE 28, T15	1									1
TYPE 29, T40	1									1
TYPE 30, T44	1									1
TYPE 31,T92										0
TYPE 32,T117	1									1
TYPE 33, Levures										0
TYPE 34,vert gris jaune coe fu ?										0
TYPE 35, jaune coe F.m.										0
TYPE 36,gris sombre								2		2
Nombre d'indéterminés		30	1							31
Somme	347	354	269	409	150	578	307	148	125	2687

SEMAINES	EAU DE LAVAGE (EL) DIA-DIA									Som. EL Dia-dia
	26-févr	16-mars	23-mars	26-mars	02-avr	09-avr	14-avr	16-avr	23-avr	
	S8	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	
TYPE 1=Fusarium monoliforme	26	43	9	19	2	11	23	2	8	143
TYPE 2=Fusarium ?	4	4	3	3	6	8	29	1	7	65
TYPE 3=Fusarium solani	5			1		2				8
TYPE 4=Fusarium oxysporum	3	6								9
TYPE 5=Fusarium larvanum					2					2
TYPE 6=Colletotrichum	6				1			1		8
TYPE 7=Verticillium	16	10		214	19	93	93	14		459
TYPE 8=Céphalosporium	52	16	53		3	22	8	8	71	233
TYPE 9=Cladosporium			66	12	11	46	55	2	2	194

TYPE 10= <i>Gliocladium</i>			1							1
TYPE 11= <i>Géotrichum</i>			1	1	5	1				8
TYPE 12= <i>Trichoderma</i>	3		1		1					5
TYPE 13= <i>Aspergillus</i>	2	1	1	4				2		10
TYPE 14= <i>Paecilomycès</i>				24		35	56	2		117
TYPE 15= <i>Pénicillium</i>	97	119	82	46	99	50	40	6	22	561
TYPE 16= <i>Stilbum</i>		1								1
TYPE 17= <i>Streptomycès</i>	1									1
TYPE 18= <i>Curvularia</i>	1									1
TYPE 19= <i>Nigrospora</i>										0
TYPE 20, blanc ras, pt noir										0
TYPE 21, T43					2					2
TYPE 22, chaîne	1				1		2	2		6
TYPE 23, blanc ras imbriqués	1									1
TYPE 24, blanc filamenteux										0
TYPE 25, T3										0
TYPE 26, T13										0
TYPE 27, T14										0
TYPE 28, T15										0
TYPE 29, T40										0
TYPE 30, T44										0
TYPE 31, T92										0
TYPE 32, T117										0
TYPE 33, Levures										0
TYPE 34, vert gris jaune coe fu ?								2		2
TYPE 35, jaune coe F.m.								2		2
TYPE 36, gris sombre										0
Nombre d'indéterminés		7	2	3						12
Somme	218	207	219	327	152	268	306	42	112	1851

SEMAINES	EAU DE DEPATTAGE (ED) TIKO									Som. ED Tiko
	26-févr	16-mars	23-mars	26-mars	02-avr	09-avr	14-avr	16-avr	23-avr	
	S8	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	
TYPE 1= <i>Fusarium monoliforme</i>	1	1		3	1	3	2		1	12
TYPE 2= <i>Fusarium ?</i>	1	9	1	6	2	21	13	7	10	70
TYPE 3= <i>Fusarium solani</i>		3								3
TYPE 4= <i>Fusarium oxysporum</i>										0
TYPE 5= <i>Fusarium larvanum</i>										0
TYPE 6= <i>Colletotrichum</i>		1	1							2
TYPE 7= <i>Verticillium</i>		16	11		33	38	103	16	1	218
TYPE 8= <i>Céphalosporium</i>	3	4	5	8	11	29	4	26	9	99
TYPE 9= <i>Cladosporium</i>		68		12	17	11	28	6	1	143
TYPE 10= <i>Gliocladium</i>				1				2		3
TYPE 11= <i>Géotrichum</i>								1	1	2
TYPE 12= <i>Trichoderma</i>	8	4		5	1	5	10	4	3	40
TYPE 13= <i>Aspergillus</i>		1	3	2						6
TYPE 14= <i>Paecilomycès</i>		1	2			15	14	9		41
TYPE 15= <i>Pénicillium</i>	58	95	36	7	57	25	13	4	6	301
TYPE 16= <i>Stilbum</i>										0
TYPE 17= <i>Streptomycès</i>	2			2						4
TYPE 18= <i>Curvularia</i>										0
TYPE 19= <i>Nigrospora</i>			1							1
TYPE 20, blanc ras, pt noir										0
TYPE 21, T43							2			2
TYPE 22, chaîne	2		1	1	1			2	1	8
TYPE 23, blanc ras imbriqués	4							3	3	10
TYPE 24, blanc filamenteux	3									3
TYPE 25, T3										0

TYPE 26, T13										0
TYPE 27, T14										0
TYPE 28, T15										0
TYPE 29, T40										0
TYPE 30, T44										0
TYPE 31, T92		4		2						6
TYPE 32, T117										0
TYPE 33, Levures										0
TYPE 34, vert gris jaune coe fu ?										0
TYPE 35, jaune coe F.m.										0
TYPE 36, gris sombre							1			1
Nombre d'indéterminés	4	28	38	4						74
Somme	86	235	99	53	123	147	190	80	36	1049

SEMAINES	EAU DE LAVAGE (EL) TIKO									Som. EL Tiko
	26-févr	16-mars	23-mars	26-mars	02-avr	09-avr	14-avr	16-avr	23-avr	
	S8	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	
TYPE 1=Fusarium monoliforme	3	2					4		1	10
TYPE 2=Fusarium ?	4	5	3	2	1	8	9	1	8	41
TYPE 3=Fusarium solani		1								1
TYPE 4=Fusarium oxysporum	1									1
TYPE 5=Fusarium larvanum										0
TYPE 6=Colletotrichum	2		1		1					4
TYPE 7=Verticillium	2	1	4		11	19	7	1		45
TYPE 8=Céphalosporium	2	20	20	3				9	22	76
TYPE 9=Cladosporium		86	28	6	10	5	26	5	2	168
TYPE 10=Gliocladium							1	4		5
TYPE 11=Géotrichum						2		2		4

<i>TYPE 12=Trichoderma</i>	8	4	2	3	7	5	10	6	3	48
<i>TYPE 13=Aspergillus</i>			1	1		1				3
<i>TYPE 14=Paecilomycès</i>			7	1		9	2	5		24
<i>TYPE 15=Pénicillium</i>	195	134	58	56	50	17	13	4	7	534
<i>TYPE 16=Stilbum</i>										0
<i>TYPE 17=Streptomycès</i>	5			1						6
<i>TYPE 18=Curvularia</i>	1									1
<i>TYPE 19=Nigrospora</i>										0
<i>TYPE 20, blanc ras, pt noir</i>										0
<i>TYPE 21,T43</i>				1			4			5
<i>TYPE 22,chaine</i>	1	1		2	4				1	9
<i>TYPE 23,blanc ras imbriqués</i>								8	1	9
<i>TYPE 24,blanc filamenteux</i>	5									5
<i>TYPE 25, T3</i>										0
<i>TYPE 26,T13</i>										0
<i>TYPE 27, T14</i>										0
<i>TYPE 28, T15</i>										0
<i>TYPE 29, T40</i>										0
<i>TYPE 30, T44</i>										0
<i>TYPE 31,T92</i>										0
<i>TYPE 32,T117</i>										0
<i>TYPE 33, Levures</i>										0
<i>TYPE 34,vert gris jaune coe fu ?</i>										0
<i>TYPE 35, jaune coe F.m.</i>										0
<i>TYPE 36,gris sombre</i>										0
<i>Nombre d'indéterminés</i>	2	7	19							28
Somme	231	261	143	76	84	66	76	45	45	1027

Annexe 4 : Quantité de spores totales par site

Quantité de spores isolées /100µl/9semaines						
	Som. ED Dia-dia	Som. EL Dia-dia	Somme Dia-dia	Som. ED Tiko	Som. EL Tiko	Somme Tiko
TYPE 1= <i>Fusarium moniliforme</i>	203	143	346	12	10	22
TYPE 2= <i>Fusarium</i> ?	95	65	160	70	41	111
TYPE 3= <i>Fusarium solani</i>	9	8	17	3	1	4
TYPE 4= <i>Fusarium oxysporum</i>	11	9	20	0	1	1
TYPE 5= <i>Fusarium larvanum</i>	7	2	9	0	0	0
TYPE 6= <i>Colletotrichum</i>	21	8	29	2	4	6
TYPE 7= <i>Verticillium</i>	1085	459	1544	218	45	263
TYPE 8= <i>Céphalosporium</i>	436	233	669	99	76	175
TYPE 9= <i>Cladosporium</i>	114	194	308	143	168	311
TYPE 10= <i>Gliocladium</i>	0	1	1	3	5	8
TYPE 11= <i>Géotrichum</i>	2	8	10	2	4	6
TYPE 12= <i>Trichoderma</i>	4	5	9	40	48	88
TYPE 13= <i>Aspergillus</i>	10	10	20	6	3	9
TYPE 14= <i>Paecilomycès</i>	8	117	125	41	24	65
TYPE 15= <i>Pénicillium</i>	622	561	1183	301	534	835
TYPE 16= <i>Stilbum</i>	2	1	3	0	0	0
TYPE 17= <i>Streptomycès</i>	6	1	7	4	6	10
TYPE 18= <i>Curvularia</i>	0	1	1	0	1	1
TYPE 19= <i>Nigrospora</i>	0	0	0	1	0	1
TYPE 20, blanc ras, pt noir	8	0	8	0	0	0
TYPE 21, T43	1	2	3	2	5	7
TYPE 22, chaine	1	6	7	8	9	17
TYPE 23, blanc ras imbriqués	1	1	2	10	9	19
TYPE 24, blanc filamenteux	1	0	1	3	5	8
TYPE 25, T3	1	0	1	0	0	0
TYPE 26, T13	1	0	1	0	0	0
TYPE 27, T14	1	0	1	0	0	0
TYPE 28, T15	1	0	1	0	0	0
TYPE 29, T40	1	0	1	0	0	0
TYPE 30, T44	1	0	1	0	0	0
TYPE 31, T92	0	0	0	6	0	6
TYPE 32, T117	1	0	1	0	0	0
TYPE 33, Levures	0	0	0	0	0	0
TYPE 34, vert gris jaune coe fu ?	0	2	2	0	0	0
TYPE 35, jaune coe F.m.	0	2	2	0	0	0
TYPE 36	2	0	2	1	0	1
Nombre d'indéterminés	31	12	43	74	28	102
Somme	2687	1851	4538	1049	1027	2076

Quantité de spores totales

Quantité totale de spores isolées/100µl/9semaines					
	Som. ED Dia-dia	Som. EL Dia-dia	Som. ED Tiko	Som. EL Tiko	Somme
TYPE 1= <i>Fusarium moniliforme</i>	203	143	12	10	368
TYPE 2= <i>Fusarium ?</i>	95	65	70	41	271
TYPE 3= <i>Fusarium solani</i>	9	8	3	1	21
TYPE 4= <i>Fusarium oxysporum</i>	11	9	0	1	21
TYPE 5= <i>Fusarium larvanum</i>	7	2	0	0	9
TYPE 6= <i>Colletotrichum</i>	21	8	2	4	35
TYPE 7= <i>Verticillium</i>	1085	459	218	45	1807
TYPE 8= <i>Céphalosporium</i>	436	233	99	76	844
TYPE 9= <i>Cladosporium</i>	114	194	143	168	619
TYPE 10= <i>Gliocladium</i>	0	1	3	5	9
TYPE 11= <i>Géotrichum</i>	2	8	2	4	16
TYPE 12= <i>Trichoderma</i>	4	5	40	48	97
TYPE 13= <i>Aspergillus</i>	10	10	6	3	29
TYPE 14= <i>Paecilomycès</i>	8	117	41	24	190
TYPE 15= <i>Pénicillium</i>	622	561	301	534	2018
TYPE 16= <i>Stilbum</i>	2	1	0	0	3
TYPE 17= <i>Streptomycès</i>	6	1	4	6	17
TYPE 18= <i>Curvularia</i>	0	1	0	1	2
TYPE 19= <i>Nigrospora</i>	0	0	1	0	1
TYPE 20, blanc ras, pt noir	8	0	0	0	8
TYPE 21, T43	1	2	2	5	10
TYPE 22, chaine	1	6	8	9	24
TYPE 23, blanc ras imbriqués	1	1	10	9	21
TYPE 24, blanc filamenteux	1	0	3	5	9
TYPE 25, T3	1	0	0	0	1
TYPE 26, T13	1	0	0	0	1
TYPE 27, T14	1	0	0	0	1
TYPE 28, T15	1	0	0	0	1
TYPE 29, T40	1	0	0	0	1
TYPE 30, T44	1	0	0	0	1
TYPE 31, T92	0	0	6	0	6
TYPE 32, T117	1	0	0	0	1
TYPE 33, Levures	0	0	0	0	0
TYPE 34, vert gris jaune coe fu ?	0	2	0	0	2
TYPE 35, jaune coe F.m.	0	2	0	0	2
TYPE 36, gris sombre	2	0	1	0	3
Nombre d'indéterminés	31	12	74	28	145
Somme	2687	1851	1049	1027	6614

Quantité de spores ramenées en ml d'eau étalée/ semaine

Site et type d'eau	ED Dia-dia	EL Dia-dia	ED Tiko	EL Tiko
Quantité de spores/100µL d'eau étalé x 10 boîtes/9semaines	2 687	1 851	1 049	1 027
Quantité de spores/ml d'eau étalée/9semaines	2 687	1 851	1 049	1 027
Quantité de spores/ml d'eau étalée/semaine	295 ,55	205,66	116,55	114,11

Quantité de spores isolées dans 100µl d'eau étalée x 10 boîtes pendant 9 semaines

Espèces	Quantité en 9 Semaines	Pourcentage(%)
<i>TYPE 1=Fusarium monoliforme</i>	368	6
<i>TYPE 2=Fusarium ?</i>	271	4
<i>TYPE 6=Colletotrichum</i>	35	1
<i>TYPE 7=Verticillium</i>	1807	27
<i>TYPE 8=Céphalosporium</i>	844	13
<i>TYPE 9=Cladosporium</i>	619	9
<i>TYPE 12=Trichoderma</i>	97	1
<i>TYPE 14=Paecilomycès</i>	190	3
<i>TYPE 15=Pénicillium</i>	2018	30
<i>Autres types</i>	365	6

Annexe 5 : Séquences d'alignement des nucléotides des types de pathogènes

```
>070802-05_C13_11-ITS1.ab1      857      0      857  ABI
NNNAAAGCTACGGAAGTACTCCCAACCCCTGTGACATACCAATTGTTGCC
TCGGCGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACC
CCTAAACTCTGTTTCTATATGTAACCTCTGAGTAAACCATAAATAAATC
AAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTCTGCGCATCGATGAAGAACGCAG
CAAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATC
TTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTGA
GCGTCAATTTCAACCCCTCAAGCCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGAGTCAA
ATCGCGTTCCTCAAATGATTGGCGGTACGTCGAGCTTCATAGCGTAG
TAGTAAACCCCTCGTTACTGGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCCC
AACTTCTGAATGTTGACCTCGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAA
GCATATCAATAAGCGGAGGAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
```

```
>070802-05_E13_12-ITS1.ab1      849      0      849  ABI
NNGGAGAACGGAGAAATATAACCTTTGTGACCTTTATACCTGTTGCTTCG
GCGGCGGCCCTTCGGGCGGTGCCGCGGTATCATCAGAATCTCTGTTC
GAACCCGACGATATTTCTGAGTGTCTAAGCGAACTGTTAAACTTTCAA
CAACGGATCTCTGGCTCCAGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGAT
ATGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
ATGGCGCTTCCAGTATCTTGGGAGGCATGCCTGTCCGAGCGTCGTTTCA
ACCTTCGAGCCCCGTGGCCCGCGTGGGGATCTGCCAGGCGAGGCCCC
GAAACCAAGTGGCGGACCCGTTACAGGCCCTTCTTTGCGTAGTAGCATC
AGCCTCGCATTGGGAGCCAGCGGGCTTCCAGCCTCTAAACCCCATCAAG
TCCGCTCGGCGGCACCAAGGTTGACCTCGATCAGGTAGGAATACCCGC
TGAACCTAAGCATATCATAAGCCGGAGGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNN
```

```
>070723-04_A14_3-13-ITS1.ab1    982      0      982  ABI
TTTCGAGTGAGAGAACCAGCGCGCCGCTGCGTCTCTCTTTTGGGCTG
CGGTACCTAGTTCTCCGCTGTAGATTGCCCCCTCTCTAGCTGTAGGTTA
TCACGCATGGTTCGAAATCGCATGACTGCCCGCACCGGGAGTGGGATAG
CTATCATTAATCTCTCATATTGAGAGATAAGTTACCTTGCTGTTTCTTT
GAAGTGGTCTTATCCATATCCACCCGTCATATTGTTTTCTCTGGCAGTTC
CTTCTAACCAAGTTCTAAAAGACATTTCCCCGCTCTGTGGCGCCAGGCAT
ACTGATTCCATCATGGTCTTCAGAACTTATTAACGGTCTGCGGGCATT
GGAGCTTCCCTTCCCGACACCTACGGTACTGCAAGTTGCTTTATTGGAAC
AAGCCATGTGTCAGAAGTGAAGACTTATACCACACAGAAGGTTGGCTCT
AATTCCTGAACAATATTTTGTCTCGCCTTTCTTTCTTTGGTAACAGT
GGAACCTGTTTCATATCTCCACTCGGGTATCTTTTCTCATCCATAATAT
GCATGACACTGTACAGCCTAGTGTCTCCATGATAGATTACTCTGTTCT
GTTCATAGAGAACACCCTTCAGTCTACCGACCACATGTTGCTCCACTT
ACATTCTTCATGCTCATAGTTAGTCCACAACGGCTGGTGTGTCGCGTGG
TCTTAATCTTATAATGTATTTCTTGATGCATTCCTCACCTTTTCTATTTT
ATAGCTCTTTGGTCCGCAATTAATTGATTCTATATACATATATCATAATC
TCACACGTACCAATCTACAACAGGAGTTCTCTGAGTGCTTCGTATTGTC
TAGCGTCCATCTACTCCACTTCTATTGTCGATCTATAGCAATACTTTGTG
TTCGTACCTAAGATAATCATAAAAGACACATTACCGTAATAGTTTAGACA
AAAAGTATGAACACGCGACAGTGTGAGAGCAT
```

```
>070802-05_G13_14-ITS1.ab1      761      0      761  ABI
NNNAAGCAGCGAGGAAATACAACCCTGTGACATACCAACTGTTGCCTCGG
CGGATCAGCCCGCTCCCGGTAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCCA
AACTCTGTTTCCATGTGTAACATCTGAGTAAACCATAAATAAATCAAAA
CTTTCAACAACGGATCTCTTGGTCTGCGCATCGATGAAGAACGCAGCAAA
ATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTG
AACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGT
CATTTCAACCCCTCAAGCCAGCTTGGTGTGGGACTCGCGAGTCAAAATCG
CGTTCCCCAAATTGATTGGCGGTACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAGT
AAAACCCCTCGTTACTGTAATCGTCGCGGCCACGCCGTTAAACCCCAACT
TCTGAATGTTGACCTCGATCAGGTAGGAATACCCGCTGAACCTAAGCAT
ATCAATNAAGCGGAGGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
```

>070723-01_L11_4-T5-ITS1.ab1 858 0 858 ABI
NNNNNGGAACCTGAATTACTCTCAACCATGTGAACCTTACCACCTGTTGCCTC
GGTGGTTTGGGTCTCTACGGGCTGACCACCGGTGGACTACTAAACTCTT
GTAAATTTTGGCATTCTGAATCATAACTAAGAAATAAGTTAAAACTTTC
AACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG
ATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCACTGAATCATCGAATCTTTGAACGC
ACATTGCGCCCATTAAGTATTCTAGTGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTT
CAACCCTTAAGCCTAGCTTAGTGTGGGAGACTGCCTAATACGCAGCTCC
TCAAAACAGTGGCGGAGTCTGTTCGTGCTCTGAGCGTAGTAATCTTTA
TCTCGCTTCTGTAAGCCGGTCAGACGACAGCCATAAACCGCACCTTCGG
GGGCACTTTTTAATGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCGCTGAAC
TTAAGCATATCATAANCCGCGAAGGAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_I13_T6-ITS1.ab1 849 0 849 ABI
NNNNAAGAAACGGAGATTTTAATTACTTTGTGGAAACATTTGGTTGAATT
TACATGGTTTTATTACAAAAAATTAATTATAATAAAAAATAATTTTAA
GAAAACCTCCAACAACGATCTCTTGGTTCCAGATCGATGAAGAGCGCA
GCGAATTGCGAAATGTGATGTGATTGCAGTGAATCATCAATCTTTGAAC
GCACATGGCACCCCTTTTAGGGGTATGCTTGATGAGGGTGTTAATATG
AAATTGCTTTGGCTTTTTTTAAATAAATGGTTTTTCAAATTGTTACTAAT
AGACGAAAGAATCAGTGCAACAAGCTGTGTTGAATCTTTCATTAAATCTT
TTAGTTAACTACTTTAACTATTTGCACCTCATATCAAGCAAGACTACCCG
CTGAACCTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAAAAANNNNNNNNNNNNNNNNN

>070723-04_C14_5-T7-ITS1.ab1 1002 0 1002 ABI
NNCCCCGAAGTGAAAGATGCAGGCGCGTTCGGGNCGCCCTGCCGTTCCCTC
GCCGCTGGTTGTNCGCGGGCTGCCTTTGCCTTGCCGNTGCGGTGCTGCGC
GCCGCCCTCTTGTGAGTAGGCTTAGCCGAGCGGCGGAGCGATCATGAC
GTACTCGGTGCGGTACGGGGTAGTCGACATGCCTTGGAATACCACTCCGCA
TTAGAAGGAGCAACGGAGACACTTGTTTTTTCGATCTGTTGTCCCTCGACT
GTATGCATCCTTCAGCTGTGAGCTCGTCGGCAGTCCTCTCACAAATAGG
ACTTAATGGCACTGCCCTGTAGTAGGCGCCAGGCGATACTGGGGTCACAT
TGACTTGGAACGTTAGACTCGATTTCGGAGGCCTCCGACTCCCGCTCTAGA
CCGCGGACTAGAGCCGTGTGTGTCGATACCCCTGAGCGAGTAGGGATGTA
CCTGCCTCCGCTAGGGTTCCCATACTGCCAGGCATTAGTGTGTGTGCC
GTCCTTGTCTTTTGTGGCCAAGAGACCGTGATATGATCCTCCTCGGGTT
CAGTACCTCACCTATCATTCGATGCATCTGTCTGTCCGCTGTTTCCATGT
CTGGATTTCTCTCTTCTGTCCGTTAAACAATACCTTCTCGCTCTTTAGGAC
ATCATGTGTGTCTTCTCGCACTTTTTCACTCCCGTGGCTGCCCCCAAC
TGAGCGTAATTTCTCGCGCTCCAACTTTGCCTTTCTGCTACTCCCTGGC
TTATATTGCTCCCTATCCGCGGTACTATAAGCTATCCTCGTCCCACTT
TCGTCTATCTGTCTGTTTTCTCTTTATAGNTCGTATCCATACCTTATCTT
ATTCTCTCCNCTGTGCGTCTCCCATTTGCTTGTCTCGTGGTGNTCTATC
TCCGCCAATTTCTTTTAGTCTCGTTTCACTTCTTAGTACTGCAATCCT
CTGTGTTCTCTCAAAGCTCTCTGTAATGAGGTCCCTCCTCTACTATCCTT
TT

>070723-01_K12_24-T8-ITS1.ab1 846 0 846 ABI
NNNNNGGATAATGAATATTGTGAATTTAACAGCAAACAATAATTTTACAA
TCAAAACAAAAATAATCAAAACTTTTAAACAATGGATCTCTTGGTTCTCGT
ATCGATGAAGAACGCAGCGAAACGCGATATTTCTTGTGAATTGCAGAAGT
GAATCATCAGTTTTTGAACGCACATTGCACCTTGGGGTATCCCCAAAGT
ATACTTGTTTGAGCGTTGTTTCTCTCTTGGAAATTGCATTGCTTTTCTAAA
AAATCGAATCAAATTCGTTTGAAAAACAACACTATTCAACCTCAGATCAA
GTAGGATTACCCGCTGAACCTAAGCATATCATAGGCCGGGAGGAAANNNN
NN

>070723-01_M11_6-T9-ITS1.ab1 845 0 845 ABI
NNNNNNGGACTAGTGACCGGTCTACACCGGGATGTTCAAACCTTTGTGTG
TCCGACTCTGTTGCCTCCGGGCGGACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGG
GTGGACACTTCAAACCTTTCGCTAACCTTGCAGTCTGAGTAACTTAATT
AATAAAATTAACCTTTTAAACAACGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAA
GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCACTGAATC
ATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGC
CTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACG
CGGTCCGCCGCTGCCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTCTGTCCCCTAAG
CGTTGTGGAACTATTTCGCTAAAGGGTGCTCGGGAGGCTACGCCGTAAAA
CAAACCATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGATACCCGCTGAA
CTTAAGCATATCTANNCNGGGAAGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_K13_T10-ITS1.ab1 871 0 871 ABI
NNNNAAGACATGCGAAGAAAATACAACCCATGTGAAATACCTATTGTTGC
TTCGGCGGGATGCCCCGGGCGCCTCGTGTGCCCCGGATCAGGCGCCCCG
CTAGGAACTTTAACTCTGTTTTATTTTGAATCTTCTGAGTAGTTTTTAC
AAATAAATAAAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGA
AGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATCTGCGCGGCATG
CCTGTCTGAGCGTCATTTCAACCCCTCACGCCCTAGGGCGTGGTGTGGG
GATCGGCCAAAGCCCGCGAGGACGGCCGGCCCTAAATCTAGTGGCGGA
CCCGTCTGCGCTCCTCTGCGAAGTAGTGATATCCGCATCGGAGAGCGA
CGAGCCCTGCCGTTAAACCCCAACTTCCAGGTTGACCTCAGATCAG
GTAGGAATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAANGCGGAGGAANNNN

>070723-01_N11_7-T11-ITS1.ab1 878 0 878 ABI
NNNAACGAAAGATACAATATTTGTGAAAAAAAAAACCCCGCGCCCGCT
TTTTTTTATCCAAAAAAAAAAAAATTTTAACAAATTTTTAAAGGGGGCC
CCTTGGGCCCCCGTCCAAAAAAAAAACCCCAAAACCCCTTTTTTTGGG
GTAATGCAAAAAAGAAACCCCTTTTTTAAACCCCACTTCCCTTTGGG
GGGTCCCCCAAAAAAACTTTTGTGAGAGCGTTTCCCCCAAAAAAT
GCTTTCTTTTTTAAAAAAAAGAAAAAAATTTGTGCCCCCTTTTTAT
ACCCCCCCCAAAAAAGGAACCCCCCCCAAAATTAACCATAAAAAA
AGGGAAAAAANCTNNCNCNCCNNNNNNNNCNCNCCCCCCCNCANN
NNNCCCCCCCCCTCCTCTCNCNNNTGNTTCAACCACNCCNCCCTCCTT
TCTCTTTCCCTCCTCCCCCTTTTCCCCCTCCCCCTCNCNCCNCCCT
CCTTCCCCCTCCCTTTTTTTTTTCTTCCCTCCCCCTCTTCTTTTCT
CCTCTCCCCCCCCCTTNTTTTTTCTCCCCCCCCCCCCCTTCCCTTTT
TNTNCCCTCCCTTTTCTTCCCCCNCNCCCTTCTTTTTTTTTTTTTTT
NNNNNTNNNCCCCCTTTTTTTTTTCTTCTTTTTTCCCTCCCCCCCC
CCTNTCCCTTCCCCCCCCCCCCCTTNTCTNTNCCCCCNCNCCNNCNCN
CCCCNCCNCCNCCNCCNCCNCTCCTCTCTNTCTCNCNNNCCCCCCTCCCC
CCTCNCCTCTCTTTTCTCCCNCTTCCCCCTTCCCTTNTNCTCCCN
TTTCCCCCCCCCCCCCTCTTNNCCCN

>070802-05_M13_T12-ITS1.ab1 832 0 832 ABI
TTTTGAGGCTCGGGTCAATCCAACCCATGTGAAGTTACAACTGTTGCCT
CGGCGGGATCTCTGCCCGGGTGCGTCGCAGCCCCGGACCAAGGCGCCCG
CGGAGGACCAACAACTCTTATTGTATACCCCTCGCGGGTTTTTTT
TTTTATAATCTGAGCCTTCTCGGCGCTCTCGTAGGCGTTTCGAAAAATGA
ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACG
CAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAAAATTCAGGGAATCATCGA
ATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCGTG
CAAGCGTCATTCAACCTCCAACCCCTCCGGGGGGTGGCGTTGGGGAT
CGGCCCTCCCTTACCGGGGGCGCTCTCCGAAATACAGTGGCGGTTTCGC
CGCAGCTCTCTGCGCAGTATTTGCACACTCGCATCGGGGAGCGCGGC
CGGACACCAGCCGATAAAACCAACTTCTGAAATGTTGACCTCGGATCA
GGTAGGAATACCCGCTGAACCTTAACCTATCAATAAGCGGAGGAAAAANN
NNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTTTNNNTNTGTTTCTTCTCGTNCGT
TTCGCCCTCTTTTACGCCATGTGTTTCAATTAGCTAAGTTTCGAGACGAT
TGATATATAAATTATATACCTTTCTTTTTATAATTACTATAATTAATATA
TTGATGATTTAGCATGTTATTATCTGATTTGTTAATGTTAGATTATTGT
TAATTTAGAGTATAAACTTATGTCGGAACAAG

>070723-04_E14_8-T13-ITS1.ab1 847 0 847 ABI
NTTTTGTAGATAGANGAGGTCCCGGGGCAACCTCCCACCCGTGTATACCG
TACCTTGTGCTTCGGCGGGCCCGCCGCGCAAGCGCCGCGGGGGGGG
GTCAAACCCCTCCCTAGGCGAGCGCCCGCGGAGACCAACGTGAAC
ACTGTCTGAAGTTTGTGTCTGAGTTGATTGATCGCAATCAGTTAAA
ACTTTCAACAATGGATCTCTTGGTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGA
AATGCGATAATTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAGCTTT
GAACGCACATTGCACCCCTGGTATTCCGGGGGGTATGCCGTGCCGAGCG
TCATTGTGCCCTCAAGCACGGCTTGTGTGTTGGGTCTCGTCCCCCGG
GGACGGGCCCGAAAGGCAGCGCGGCACCGCTCCGGTCTCGAGCGTAT
GGGGCTTGTCAACCGCTCTTGTAGGCCCGCGCGCTGGGCGAATCTG
AAAAACCACCAATATTTCTTCCGGTTGAACTCGGATCAGGGGGGGATAC
CCGCTGAAATTAACCTATTCAAGCGGAAAGAAAAANNNNNGTNGNTGT
NNTTNTNNNNNNNNNNNTTNNNCCNNGGTTTTGTGTTTCTGTGTTCT
TTTAGAGTCTGTCTGTATTNGATATGTTGACAGTTTACGAGATTTATA
TAACTACAAGTTTATAATAGAATTAATGGATTACAAAATAATTNGTAA
ATTGATTTAAATTTCTCATGAAATATTCATAGAATATGATTATAGGTTT
ACATAAATATTGTAAGTTACTGTTATAAACATTTCATATTGTATCTTA

>070802-05_013_14-ITS1.abl 847 0 847 ABI
GGGGAGATGAGAGGCTCGGGTCACCTCCCACCCGTGTTTATTGTACCTTG
TTGCTTCGGCAGGCCCCGCTCACGGCCGCGGGGGGCTTTCGCCCCGGG
CCCGCGCTGCGGAGACAATCTGAACGCTGTCTGAAGAATGCAGTCTG
AGCGATTAAGCAAAATTAGTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTC
CGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAATTAATGTGAATTGCAG
AATTCACTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATT
CCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGGCTTG
TTTGTGGGTCTTGTTCCTCCGGGAACAGGCCCGAAAGGCAGTGGCGGCA
CCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGGCCCG
GCCGGCGCTTGGCGACCCCATCAATCTTTTTCAGGTTGACCTCGGATC
AGGTAGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCATAAGCCGGAGGAAANN

>070802-05_15_15-ITS1.abl 769 0 769 ABI
NNGGAGATAAGAGGCTCGGGTCACCTCCCACCCGTGTCTATCGTACCTTG
TTGCTTCGGCGGGCCCCGCTCACGGCCGCGGGGGGCATCCGCCCCGGG
CCCGCGCCCGCGAAGACACACAAACGAACCTTGTCTGAAGATTGCAGT
CTGAGTACTTGACTAAATCAGTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGT
TCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGC
AGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTA
TTCCGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCACGGCT
TGTGTGTTGGGCTCTCGCCCCCGCTTCCGGGGGGCGGGCCCGAAAGGCA
GCGGCGGCACCCGCTCCGGTCTCGAGCGTATGGGGCTTCGTACCCGCT
CTGTAGGCCCGCGCGCGCCGCCGCGAACCACATCAATCTTAACCAGG
TTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAA
GNCGGAGGAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_15_16-ITS1.abl 860 0 860 ABI
NNGGAGCTGGAGAAAACACGAGCCTTTGTGACATACCAGTGTGCTTCGG
CGGGATCGTCCCGGGCGCGCCTCTGGGCGTGTCCCGGATCCAAGGCGCCC
GCCGAGGTATCAAACCTTTGTCTTTATATCGACTTCTGAGTATTAAC
AAAAATAAAATTAACCTTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTGGCATCGAT
GAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGA
ATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCAACAGTATTCTGGTGGGCA
TGCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAGGCCTGGCCTGGTGTGGGG
ATTGGCTTCGCAGCCAGCCCCGAAATGCAGTGGCGGCCCTCCGCAACTCC
TCTGTGTAGTAGTGATACCCGATTGGATAGTGGTTGCGCCTCGCCGTAA
AACCCCAACTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGAATACCCGCTGA
ACTTAAGCATATCAATAAGCGGAGGAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNT
TNN
NN
NN
TTTTTNTNTTTTTTTTTTNTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT
TT
TT
TT
TT

>070723-01_011_10-17-ITS1.abl 866 0 866 ABI
NNNNNGGGAATATGATACNTGATGTGGTTGTGCTGGCTCTCTCGAGAGTA
TGTGCACGCTCGTCATCTTTATATTTCCACCTGTGCACCTTTTGTAGACC
CAGGCGACTTGAGCAATCAAGTCAATTGAGTCTATGTATTATCATATACC
CCATAGTATGTCTTTGAATGTGTCAATGGGCTTTGATGCCTATAAACATT
ATACAACCTTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCACTGAATCATCGAA
TCTTTGAACGCACCTTGCCTCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTT
GAGTGTCAATTAATCTCAACCTCTCTAGTTATTTGACTAGTAGTTGGC
TTGGATGTGGGGTTTTTGTGACGGCTTTCACAAGTCAGCTCCCTGAAAT
GCATTAGCCGGTACTTTCTGACCGTCTATTGGTGTGATAATTATCTACGC
CGTGGACTATTGGATAAGTGTACTGCTTCTAATCGTCTGTACTAGACAA
TTTATGACATTTTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAG
CATACAANNNCNGNAGAGAAAAAANNNGNNGNNGNNGNNGGNGGNGG
GNNNGNNGNNGNNGNNGNNGNNGNNGGNGGNNCNNNGGGGAACCCG
GGGGANGGGGNAAGGAANNNGNGGAAANNNGNNAAAAAAAAAANNA
AAAAAAGGNNNNAAGNGGAANGGGGANGGAGGGNGGGGAANNNAANN
AAAAAAGGAANTTTGGGNNNGGAAGAGGGAAAAANGNNNGAAA
GGGAAAAAAGGGGGG

>070723-01_P11_11-**T18**-ITS1.ab1 834 0 834 ABI
NNNAAAGATCATTAATAGAGGCTCGGCTGGATATTTTATCACCCCTTGTCT
TTTGCGCACTTGTGTTTCTGGGCGGGTTCGCCCCGCCACCAGGACCACA
CCATAAACNC'TTTTTATGCAGTTGCAATCAGCGTCAGTATAACAAATGT
AAATCATTTACAAC'TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGA
AGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAAT
CATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCTTTGGTATTCCAAAGGGCATG
CCTGTTTCGAGCGTCATTGTACCTTCAAGCTTTGCTTGGTGTGGGCGTC
TTTTTGCTCTTTGGCCTCGCCCAAAGACTCGCCTTAAACGATTGGCAGCC
GGCCTACTGGTTTCGCAGCGCAGCACATTTTTCGCTTGCAATCAGCAAA
AAGGACGGCAATCCATCAAGACTACATTTTACGTTTGACCTCGGATCAG
GTAGGGATACCCGCTGAAC'TTAAGCATATCAAANNCGCGAAGGAANNNNN
NN

>070802-05_E15_11-**T19**-ITS1.ab1 759 0 759 ABI
NNNAAAGCATAGGATGAGGCTCTGGCCGACCTCCACCCTTTGTATCAAAA
CCTCGTTGCCTCGGGGAGGCCCTGCCCCACGGCTGGCCCCCGATGGACC
ACTAAACTCTGCATCTGTATGACGTCTGAGTAAAGATTTTAAATTAATC
AAAAC'TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAG
CGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATC
TTTGAACGCATATTGCGCCCTTGGTATTCTTGGGGCACACCTGTTTCGA
GCGTCATTTACCAATCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCGATGCGGCCTGC
CCGCACGCCCTCAAATGCAACGGCCGAACGTGCTCTCCTCCGGCGTCGTGG
AAACATACCCGCTATGGGGATGAGGGCGACTCGTGCCGCACAAACCTAAAT
TTTCAAAGGTTGACCTCGGATCAGGTGGGGATACCCGCTGAAC'TTAAGCA
TATCAATAAGCCGGAGGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_G15_11-**T20**-ITS1.ab1 859 0 859 ABI
NNNNGGGGCTTACGAAAAACAANTGGCCCCAGATACACCTTTGTGAAC
TTATACCTTACTGTTGCCTCGACGCATGGTGGCCCCCTGGGGGCCCCCTC
GGAGACGAAGAGTCATGCACCCGCTGCGAGCCACATTAAACTCTATGTTT
TTTACTCTGAACTCTGACAAAAAACACTCATGAGTCACAACTTTCAAC
AACGAATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAGTAACGCACCGAAATGCGATA
ATCAATGTGAATGCAAAATTCATTGAATCCTCTAATCTTTGAACGCACA
TTGCGCCCTCTGGTATTCTGAGGGCATGCCTGTTCCAGCGTCATTTCAA
CCCTCAAGCATTGTCTGGTGTGGGGCACTGCTTTTCTCGCGATATCATG
CAGTGAAATCTAATGGCGATCTCCCCAGGACCCGAGAGTACTAGTTAAA
CCCTCACTTTGAAAGCCCTGGCGCTGCCCTGCCGTTAAACCCCAACTC
TTGAAATTTGACCTCGAATCAGGTAAAAATACCCGCTGAAC'TTAAGCAT
ATCAATAAGCCGGAGGAAAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_I15_11-**T21**-ITS1.ab1 845 0 845 ABI
NNNNGCCGTCGAAAGAAACACGTGAATGTCTCTGTATAGGCTTGTGCTG
CTTTTCGAAGTGGCTAGCCGAAGGTTTCGCAAGAAACCGATGTCTATTAA
ATCCCTTATTTAACCTATGACTGAAACAATACTGCAGACAGAAATGTGTG
CATACAATTGAAATACAAC'TTCAACAGTGGATGTCTAGGCTCGCACATC
GATGAAGAACGCTGCGAACTGCGATACGTAATGCGAATTCAGAAATTCAG
TGAGTCATCAAAATTTGAACGCATATTGCACTTCGGGTTAGTCCTGGG
AGTATGTTGTATCAGTGTCCGTCAATACAAAATTGCTTTTCTTTTGGGA
GAGCAGACTTTGGTGGTCTTGTTCGGCAAGTCCATTGAAATGAGGATTG
CCTGTACATCCTCGTGGGAAGCACTAAACAAAAGGACCTGGCATTCTGCC
TCGAAAGTTTTGTGTAGGTATCCAATTTCCGGAGGAGGAATAATTTGC
GGTAGAATTACATAGTGAATCTCATCAAAAAAATTAATATGGATTTT
TTGTTCCCGCAAGATTGTTAGCCAAAGAACTAATCCACAGCATTAGTA
TTTCTTGTCCCTAATCATCTCTATAATTGAAAGTAAACAACAACCGTAAA
ATCAGACTATTATTCTGTTTTGATCTAAATAGTACACTCCGTGATGACT
ATGTTTAGTATTACCAAAAACAGTAAAAAATAATTTAGCTATATAATTA
TATTTGCTTACATTTATAAGTTTTTATAATAAACTCTCCTAAATATAAC
TTTATTCTTTTCAAACCTCTTCTACCTTAAATATATATCCATA

>070723-04_G14_13-T22-ITS1.ab1 870 0 870 ABI
NNTTTAAAGATAGAAATAGATGGGTTGAGCTGGCCTTCCGAGGCATGTGCA
CGCCCTGCTCATCCACTCTACACCTGTGCACCTACTGTGGGTTTCAGACG
GCGTAGTGAGCCTTTACGGGTTGCGGAAAGCGTCTGTGCCCGNGTTTAT
TACAACTCTTTACAAGTAAAAGAATGTGTATTGCGATATAACGCATCTAT
ATACAACTTTTCAGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGC
AGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAA
TCTTTGAACGCACCTTGCGCTCCTTGGTATTCCGAGGAGCATGCCTGTTT
GAGTGTGCATGAAATCTTCAACCTATAAACCTTTGCGGGTTTGTAGGCTTG
GACTTGGAGGCTTGTCGGCCTAACAAATCGGCTCCTCTTAAATGCATTAA
TTGATTCTTGGCGATCGGCTCTCGGTGTGAAAAATGTCTACGCCCCCAC
CGTGAAACGTTTGGGGGAGCTTCTAATCCTCCCTTATGAGAAAACACATT
TGACTCTGAACTCAAAATCAGGTAGGAATACCCCGCTGAACTTTAACATAT
TCATTAAGTGGGAGGAAAAATNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
TCATGTTTGNATTATATTTTTGTATATATTCACTAAGTATAAAATATTTT
TCTCTAAAAATAAAAAAGCTTGCCCAAAAAAAAAAAAAATATTTCACTANC
GAGAATTAAAAATAAAAGTTTTTTTTTTATTTTTTTCTTTTTTTCTTCTT
TTTTTAATTTATAAACTTTATTTTAAANTGTCTATCGATGATTTCTTTA
TAACAANACAAACATAACTT

>070723-01_I12_14-T23-ITS1.ab1 828 0 828 ABI
NNNNNGATAGATAATGGGGATTGAGCTGGCCACCAGGCATGTGCACAT
TCTGTTCTTCATTCTCATACACCTCTGTGCACCTTTACATAGGTTTGGTAT
AGAAAAAGGTCTTTATTGACTTTGGAAATACTGACCTATGCTTTTACAAAC
GCTTCAGTTTTAGAATGTCATCCGCGTATAACGCAATAAATACAACTTTC
AGCAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCG
ATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGC
ATCTTGCGCCCTTTGGTATTCCGAAGGGCATGCCTGTTTGAGTGTGCATGG
TATTCTCAATACCCCAATCTTTGCGGATAAGGGTGTGTTGGACTTGGAG
GTTTTTGCAGGTAATGATTGTATTACCAGCTCCTCTTAAATGCATTAGCA
GAGATAATACTGCTACTCTCCAGTGTGATAATTGTCTACACTGTTAGTAG
TGCGGTATAACAAAATGTCTATGCTTCTAATCGTCTTTGGACAACCTTTG
ACAATCTGACCTCAAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACTTAAGCATATC
ATAGNCCCAGGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070723-04_I14_15-T24-ITS1.ab1 886 0 886 ABI
NNNAAGGGATAGAGACACNAGTCTTTCCGACTGGTAGGGTTTGGGTCTGG
CCTCTGGTCGACCTTCATCTAACACACCGTGAACTGTGGCTTCGGCCATT
TTACACAACTCTTAGTAATGAATGTATTATCATAACATAATAAACTTT
CAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGC
GATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACG
CACCTTGCGCCTCTTGGTATTCCGAGAGGTATGCCTGTTTGAGTGTGATG
AAACCTCACCCCTCTGGGTTTGTGACCTGGTGGTGGATTTGGGCGC
CTGCCGTCACCTCGCCTGAAAAGCATAGCACCTTGGATGTAATACG
TTTCATCCTCTCGGGTGGCTGACAACCCACATACTTCATGATCTGGCCT
CAAATCAGGTAGGGCTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAANGCAGAG
GAAANAANN

>070802-05_K15-T25-ITS1.ab1 855 0 855 ABI
NNNAAGCTATACGGAGCACATCCAACCCCTGTGACATACCTATAATTG
CCTCGGCAGACTCAACGACGGTGCTCCGAGAAATCGGGCGCCGCTCGCTG
CCAGAGGAACCCCAACTCTATGTATTCTTGTGGATCTTCTGAGTAAAC
AAAACAAATAAATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAG
TGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGG
GCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCACCCCTCAAGCCCTTAGGGCTTGGTG
TTGGGGATCINNNAANNNNNNNNNAANNNAANCAANNNGGGGGANAGAA
AGAAGAACCNNNGGGGAAAAAAGAAAAAAGGAGAGAGAGAGAAAGAG
GGGAAAAAAGAAAAAGNGAAAAAGGGGAAAGAAAAAAGGAAGAA
GAAAGAAAAAAGGGGAANAAGAGGGAAAAAAGAAAAAAGAAAAA
NAAGGANNNNAANNNNNGAGAAAAAAGAAAAAAGGGGAGGAAGAAA
ANAAAAAAGGGGAGAAAAAAGGGAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAA
AAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGGAGGAAAAAAGGGGAAAAAAGAAA
AAAAAAGAAAAAAGNAAAAAAGAGAAAAANGGGGAGGGAGGAAGGA
NGGAAAAAANAANAAGAGAAANNAAGAAAGGGGAAGAAAAAGAA
AAAGAAAAAAGAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAAAAAAGAA
AAAG

>070802-05_M15_26-ITS1.ab1 837 0 837 ABI
 NNNGGAGATCGAATAACTCCAACCATGTGAAATACCTATCGTTGCTTCGG
 CGGGATCGCCCCGGGCGCCTCGTGTGCCCCGGATCCGGCGCCCGCCTAGG
 AACCTTAACCTCTGTTTTATTTTGAATCTTCTGAGTAGTTTTTACAAAT
 AAATAAAACCTTCAACAACGATCTCTGGTCTGGCATCGATGAAGAA
 CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATC
 GAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGAGTATTCTGGCGGGCATGCCTG
 TCTGAGCGTCATTTCACCCCTCATGCCCTAGGGCGTGGTGTGGGGATC
 GGCCAAGGCCCGCAAGGACGCGCGGCCCTAAATCTAGTGGCGGACCCG
 TCGTGGCTCCTCTGCGAAGTAGTGATATTCCGCATCGGAGAGCGACGAG
 CCCCTGCCGTTAAACCCCAACTTTCCAAGTTGACCTCAGATCAGGTAG
 GAATACCCGCTGAACCTAAGCATATCATAGNCCGGGAGGAANNNNNNNN

>070802-05_O15_27-ITS1.ab1 851 0 851 ABI
 NNNGGCGCTCGCGCAGAAGAACTCGTGCCGGCCGTGCCACGCTTTGTT
 TACTGCCCTCTGTGTGAACCTACAGCATACACCTCGAGAAGCAGAAGCTA
 CGAACATTTAACAACAACTCTTACACGGAACGCATGGTTCTCCCATCCTA
 GAACCTTTCCACCCGAAAGCTCTTGCCCTTGGAATTGGCAACATCGCGGA
 GCAATGCGATCCTTGACGCCAATTGCGCCCCCGGTGATTCCGGGGGTCT
 TTGCAGGCTCCATGGCCCTCTCGGCCCTCCGAGCGGGATACCTGTTTGTG
 GGGCATGGAACCTCAAGCACTCTGGGTGTTGAACCGCCCTTCGGGGGTGT
 TGTTCCAGATTGGCCAAGGGCTCACGTTACTTCCGGACCCAATATCGAA
 AGGAGAAACCCGTTCTGTCTCTCTGCGAAGTATTGATCTTCTCACCG
 GATAGCGACGAGCCCTGCGCTTACCCCAACTTTCCAAAGTTGTCTCT
 CATATCACGCAGGAATACTCGCTGAACCTTAATCACATCTTATCTATGAAT
 AAACCTGTTTGAATAACTTAAATAAATAGGAAGTGTAGCGTATACCCGT
 CCTGTGCTAATCATATGTATATTTGGTCTCTCTCTGTACTTACTATCC
 ATCCTTCAAATTCGCGACTCTTTGTTGCTCCATTCTTACCTACTCTT
 ATTTATCTCCCATTTAATTATCATACCATACCCCTTTTCATTTTGTGTTGG
 GGTGGATATACTAGTTCTCCCTACCCCTCCCTCTTTTCTTAATTGA
 AACTTCCGGAAGTAATCCATTATGTGATAATAGGACATTTTATCATCTC
 T

>070802-05_A17_28-ITS1.ab1 779 0 779 ABI
 NNAAAGATCGGATAACTCCTAACCTTCTGTGAACCTACCTATCGTTGCTTC
 GGCGGACTCGCCCCAGCCCGACGCGGACTGGACCAGCGGCCCGCGGGG
 ACCTCAAACCTCTGTATTCAGCATCTTCTGAATACGCGCAAGGCAAAA
 CAAATGAATCAAACTTTCAACAACGATCTCTTGGTCTGGCATCGATG
 AAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATCCAGTGAA
 TCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGAGCATTTCTGGCGGGCAT
 GCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCCTCGACCTCCCTGGGGGAGGTCTGGC
 GTTGGGGACCGCGAGCACACCGCCGCGCCTGAAATGGAGTGGCGGCCGT
 CCGCGGCGACCTCTGCGTAGTAATACAGCTCGCACCGGAACCCCGACGCG
 GCCACGCGTAAACACCCCAACTTCTGAACGTTGACCTCGAATCAGGTAG
 GACTACCCGCTGAACCTAAGCATATCATAAGGCCGAGGAAANNNNNNNN

>070802-05_C17_29-ITS1.ab1 822 0 822 ABI
 NNNNAGAGCGCAGTGAGATACTACTTTGTGACATACCTATCGTTGCTTCG
 GCGGGTCCGTCCCGGAGCTGGCAGTGACGGCCAGCCCCGGAACCAGACG
 CCGGCCGAGGACCCCAAACCTCTGTTTTATAGTGGATCTTCTGAGTCTT
 TTATAAAATAAATTAACCTTTCAGCAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATC
 GATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAG
 TGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCGAGTACTCTGGCGG
 GCATGCCTGTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAGGGCCCGTCCGCGGGACC
 TGGTGTGGGGATCCGCTGCCCTGGGCGCTGCCGGCTCTGAAATACAGT
 GGTGGTCAATTTGCAACCCCTCCCTGCGGGATTATAAACGAGTACCCTT
 GCCCTTTGACGACATGAAAGGGAACATTCTCGAATTCCATTTCTTAATAC
 AAAGAAGAAAAATGAATCCAGCTTAAACCATCTCTTTCAAATGAGGATG
 ATAAATCCGTTGAAAAAACTGGGCTAGTAAATGCATACTTCAATACTT
 ATAGGTACAACGTACTGTTCCCTACGAATTGGAATTAATTTAATGAGCAG
 TGCGATGTAGCCAACTCTGCTGTTAAACTCTGAATAAATACTAAGGTTT
 TTTCCCATCTTTTTTAGCCTAAAAATCACTTAATTATATAACACAATA
 ATTTTTACAATTTTTTCACTTCGAACAATTAGAAAAATAAATATGTCA
 CCAAAATGAATCTTACACTCAG

>070802-05_E17_T30-ITS1.ab1 857 0 857 ABI
 NNNAAGCTCGCGAATGGACATTGGGTACCTCCCCCGTGTATTGTGTAC
 CTTGTTGCTTCGGCAGGCCCGCTCACGGCCCGCGGGGGCTTCTGCCCC
 CGGGCCCGCGCTGCCGGAGACAATCTTGAACGCTGTCTGAAGAATGCAG
 TCTGAGCGATTAAACAAAATTAGTTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTG
 GTTCCGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAATTAATGTGAATT
 GCAGAATTCAGTGAATCATCGAGTCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGG
 TATTCCGGGGGCATGCCTGTCCGAGCGTCATTGCTGCCCTCAAGCCCGG
 CTTGTTTGTGTTGCTTGTCTCCGGGAACAGGCCCGAAAGGCAGTGGC
 GGCACCGTCCGATCCTCGAGCGTATGGGGCTTTGTACCCGCTCTGTAGG
 TCCGGCCGGGGCTTGTGACCCCAATCATCTTTTTCGAGGTGAACCTCT
 CATCAAGTGAGGGATATCCGCGTGAACCTTAATCTTATCTATAAGCAGGAA
 GAAAAAATCCCGGAAAAGNNNTTNGCTTGTCTTCTTCTCCCTCTA
 TTTTTTCTTTGGTTTGTATTTTCCGCCCTCCTTGCATTGTGTGTGA
 TCTTTGGCTCTAGCAACCCACTCTGTAGTCTTTAAAAAGCAAATTAAGT
 TTGATCCGTATTTGTTATGGAAGATGTTGTGTGATTAAATCAAAAAT
 AATAAAAATTGTTTCCAACTCGTATCTTTGATAAATTTATATGCTAAT
 GCTACTTTGTATTCTTGCTACTCTGTAAGTATGAGACAAAAAATCACTA
 ATCTAAG

>070802-05_G17_T31-ITS1.ab1 838 0 838 ABI
 NNNAAGATAGAGATAGAGCTCGGCNCGACTCTCCACCCTTTGTGACGTA
 CCTCTGTGCTTTGGCGCTCCGGCCGCCAAAGGACCTTCAAATCCAGT
 CAGTAAACGCAGAGCTGTGATAAACAAGTTAATAAACTAAACTTTCAAC
 AACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
 AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACA
 TGTGCGCCCTTGGTATTCCGGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACAA
 CCCTCAAGCTCTGCTTGAATTGGGCACCGTCTCACTGCGGACGCGCCT
 CAAAGACCTCGCGGTGGCTGTTCAGCCCTCAAGCGTAGTAGAATACACC
 TCGCTTTGAGCGGTTGGCGTCCGCCGCCGACGAACCTTCTGAACCTTTT
 CTCAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATA
 TCATAAGCCGGAGGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 CCTCCCTTCNNNGCTTTGCGGCCCCCGCCGCGCNGGCCCTTCCACTCCC
 TTCTTTTCCCCCCCCCTCTGTTTGCCCTTTTTTTTACTTNNCCTTTTTCC
 CCGGTTTCTTTGGTTCTGGGTCTGTGTNNCCCCCCCCCTTGGCGGCC
 CNGGGGGTGTGGGGTTTGGGGTTTCTNNTTTTTGGGCCCTTGGCCCC
 TGGTTTTCTGGGGGGGCTTCCGGGGTTTTCCCCCCCCCCCCGGTTG
 GTTGGGGGCCCTCCCCGGGGGGCCCCCCCCCTCCCG

>070802-05_I17_T32-ITS1.ab1 851 0 851 ABI
 NNNGGAGAAACGTAGAGCTCGTCGCCCGACCTCCACCCTCTGTTGTTAA
 AACTACCTTGTGCTTTGGCGGGACCGCTCGGTCTCGAGCCGAGGGGCT
 TCGGCCAGGCGAGCGCCCGCAGAGTTAAACCAAACCTTGTGTTTTATA
 ACCGGTCTGAGTAAAAATTTGAATAAATCAAACTTTCAACAACGG
 ATCTCTTGGTTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA
 TGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG
 CCCCTTGGTATTCCGAGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTACCACTC
 AAGCACTGCTTGGTATTGGGCCCGTCCCTCCTCTTGGGGGGCGAGCCT
 CAAAGACCTCGCGGAGGCTCACC GGCTTTAGGCGTAGTAGAATTACTTC
 GAACGTCTTAAAGGGGAGGACTTCTGCCGACAGAAGCCTTTAATTTT
 CTAAGTTGACCTCGGATCAGGTAGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATAT
 CATAAGNCGAGGAANNNNNNNNNNGGGNGGGGGGGGGGCGNNGNNNN
 NNNGGGNNNNNNNNNNNNNNNNNGGGGGGGGGGGGGGGGNNNGNN
 NNNNGGGNGGGGGGNGGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
 NNNGGGGGGGGGGGGGGGGGGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGG
 GGGGGGGGGGGGGGGGGGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNGGGGG
 GGGGGGNGGGGGGNNNNNNNNNNNNNNNGGNNNNNNNNNNNNNNNN
 G

>070802-05_K17_T33-ITS1.ab1 849 0 849 ABI
 NNNAAGATACGGAGTAACTCCCAACCCCTGTGACATACCTAACGTTGCC
 TCGGCGGGAAAGCCCCGGGCGTGGCGCAAGCCTCGCACCGGTACAGGC
 GCTCGCCGGAGACCAACTAACTCTTGTATTCTAAGAATCTTCTGAG
 TAACCATAAGCAATAAATTAAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTG
 GCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATGCAGAA
 TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTACTCT
 GCGGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCTCTGCTTGGT
 GTTGGGATCGCGCCTCCTCTTGGGGGGCCAGCCTCCGATACCTCTGCG
 AGGCCTCCCCGGCTTTCCGCTATGAGAATTACTTCTAACGCTTTTATAA
 AGAAACCACTTCTGCCAGGGGAACACTTTAAATTTAAGAAATTTCCCCGC
 TCGAAATGGAGACATAAACCGCGACATAAAACACTGTTTGAAGGAAGAA
 AAATCCTGTCTAAAAAAAATGCGCTTGGAGACTGACCCAGCAAGNCNN
 NNNCCACTAACTNACCCNGGAGNGGGACAGAAAAANCCCCCAACAACG
 CACTGAAGCAGCACAAAAANTNANTATCCANNAATTTATCCATTTANT
 ATACGCAAAAAGAAATAAATAACAAAAANAANNTAACTATTTTCTTTT
 ATTCCTTATNCATTTTNTATAGCAACCAAAAAAANTATAAAAAAGAGAA
 GNTAAGATAGGGGAAAAATATANATTCAAAAANAGANATAACNCCTC

>070723-04_K14_17-T34-ITS1.ab1 883 0 883 ABI
NNNGGGGATAAGAGACGGGCTTGCCTGCCTCTCTTACCCATGTCTTTTG
AGTACCTTCGTTTCTCGCGGGTTCGCCCCGGGTGGACAACACTTA
AACCCCTTGTAATTGAAATCAGCGTCTGAAAAAAGCTTAAATAGTTACAA
TTTCAACAACGATCTCTTGGTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAA
TGCGATAAGTAGTGTGAATTGCAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGA
ACGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTGAGCGTC
ATTTGTACCTTCAAGCTCTGCTTGGTGTGGGTGTTTGTCTCGCCTCTGC
GCGCAGACTCGCCTCAAAGCAATTGGCAGCCGGCGTATTGATTTCGGAGC
GCAGTACATCTCGCGCTTTGCACTCATAACGACGACGTCCAAAAAGTACA
TTTTTTTACACTCTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAAGTTAA
GCATATCAATAAGCAGGAGGAAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_M17-T35-ITS1.ab1 830 0 830 ABI
TTTGAGCTTAGGAAGAAAAGCTTGCCTGGCTTCATATGAGTTTGGACAC
GTGTGTCTCTCGCGGTTCCTCCCCGGTGGTGACACAGACAACATTCT
GTGTTTCGTGATATGAGCGACAGAATAAACTTTAATATGGACTTCTTCAA
CGGATCACCTGTTGGTGGTGGCGTTGAAGAACGCAGCGCAGTGTCTAG
TAGTGTGGAGTGTGAATACATCGGAGAATCGTATCGTCGATCGCAGATT
GCTGCGCTGTGTTATCCGAGGGAGGACGGTTGGACCATCGTTATTTGC
CCCCCAAGCTGTTTGTGGTGGTGGGTGTTTCTGCACCTCAGCTGCTGA
CACTTGTTACTGCACGAGGTAGTAGTGGTAATGTCTCAAGAGATTTAGG
CCTCTCCCTCGTACGCTCGAGCGGACAAGCTCTCTTTCGCTGCTTGT
TCGGTCTAGGTGGCGGACCTAGCAGAACTACCCCTTTAAACGTAAGAGCAC
GAATAAGCGGAGGAACACCCCTGAAGTGTGATATCGATATGCCTTAGG
GAGGGACTCGGTTTCGCTTGGGAGATTGCCCCCGGAAGGTTTAAATAGA
ACATTTTCGTACCTTTATGAGATTAGAAATGCGCTTTGTATGGGGAGACT
CTTCATAGACGTCAAATGGTAAATAGTCTGTAGTATTCTAAGAGTGCAGT
AATTTTGGGAATAAGAAAATGTGATTTTGGATCGCTACATGAAATGGAT
AATCAAGAGTATAGGTGGAAGATTGGACAACACTCCTCAAACATAATATC
TTATGGGGGTAAGGTTGGGGGATACATC

>070723-04_M14_18-T36-ITS1.ab1 845 0 845 ABI
NNNGGAGAATGAGTATTGCAGAGGTGTAGCTGGCTTTTCAACTGTGCACA
CCTCTTGCTTCTACTACATTTCCACTTGTGAACCTCTTGTAGACTACGAA
TGAAGGCTCGCCTGAAAATGGCGGATTGAGAGGGAGACTTTGGTCTCCCT
TGCTAGTTCGTAGTCTATGTCTTACATTTACCCTTGATGAAATGTTAATG
AATGTCGTTTACTGGTCATTTAGACCTTTAAATCTTAAACAACTTTTCA
CAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGAT
AAGTAATGTGAATTGCAGAAATCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCAC
CTTGCGCTCCTTGGTATTCGAGGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCAATAAA
TTCTCAACCTTACCAATTTTTTGTGGTCAAGGCTTGAGCTTGAGAGGTT
GCGGGCTTTCTAAAGTCGGCTCCTCTTAAATGCATTAGTGGAGACTTGT
AATCGTCGCCTTGGTGTGATAATTATCTGCGCCTTGGTGTATGATGACTA
GTAATGTCTTTGCTTCCAACAGTCCATTAACTTGGACAACCTAATGACTTT
TTGACCTCAAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAAGTTAAGCATATCAATAA
GGCGGGAGGGAAGGGNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN
NN
NN
GGGGGGGGNN

>070723-04_O14_19-T37-ITS1.ab1 773 0 773 ABI
NNNGGAGACTAGAGAAGTCACAGCCGCTNNGGCGGAAGTGGAGCCACCAC
ACCTACCTTGTGGCTTCTGCTCGAGCGCACGACGCGACTACCTCCAACGA
AGTACGTGAATATTGTCCAACCTGCGCTCATTTGCGTGCGAGACTTTGAAA
GCAAACTCAGACCACCCCTAAGCCTCTGGCAACAAGTAAGTTCTCGCGC
CGTCTCGTCGATCTTGAGCACCGGTACCATGGATGCCGCCGAGCCGGA
CCCTTCGGGCAGCTCTCCGCCCCGACAACCTCCTTTTCCGTCAGTCCGG
TGCTGGCAACAAGTGAAGGTCACACCCCTGAGGATACGTCGTCTC
GCGGCCCCGAGCTGGCCAGCCTGTCTTAGCACGGCTGGCCCCGCGTGAA
GGACGGGGTTACTTGAAGCAGTACTGCGCCATTGCAACCTCGAACGGAGC
TAGAACGGCAGACAGTAAGTCCCTTTCCATGGACCATGGGTACGCGTC
ATCATGCACCATAAGGGGAAAGTGAATGTACATTCTTCTGGCTCAGCG
CTGTGAGCTAACAGCACCCGCGTGGAATTTTCGACTTGAGTCACAGGCA
CTCTAGCTGCTAGACTCTTACCTTCCACAAGTGAGGTCTTCATCCCTGTA
TCGAAACTACCTGCGCAACATGCACGGGACACACACTTGAGCCAAACGT
GACCACCAACCAATCTATCCTCTGGCCCCCGTAGCACGCTGACAGAT
TTGGAGAGGGTGGTCTACGAATA

>070802-04_A01_138-ITS1.ab1 859 0 859 ABI
ATNNNNNGGCAAAAAGCGGACTTCGGTCCTTGCTGCACCCCTTGCTTTTG
CGTACCGTATGTTTCCCTCGGCGGGCTTGCCCTGCCGGTTGGACATTATCAA
ACCTTTTGTAGTTGCAATCAGCGTCAGAAAAACAACAATAATTACAACT
TTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAAT
GCGAAAAGTAGTGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAA
CGCACATTGCGCCCCCTTGGTATTCCATGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCA
TTTTGTACCCCTCAAGCACTGCTTGGTGTGGGCGTTTGTCTGCAAAGGA
CTCGCCTGAAAGCGATTGGCGGCCAACGTACTGGTGGTAGAGCGCAGCAC
AATTTGCGTCTCTCCCTTCTACGTTGGCGTCCATGAAGCCTTTTTC AAC
GTTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAAG
NNCGNGGAAGAAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-04_B01_139-ITS1.ab1 843 0 843 ABI
TTTTTCGAAAGGACCGGTTTACCCGGGATGTTTCATAACCCCTTTGTTGTCC
GACTCTGTTGCCCTCCGGGCGACCCTGCCTTCGGGCGGGGGCTCCGGGTG
GACACTTCAAACCTTTGCGTAACCTTGCAGTCTGAGTAAACTTAATTAAT
AAATTAACAACTTTTAAACAACGATCTCTTGGTCTGCGCATCGATGAAGAA
CGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATC
GAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTGGTATTCCGGGGGGCATGCCTG
TTCGAGCGTCATTTCAACCACTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCAACGCGG
TCCGCCGCGTGCCTCAAATCGACCGGCTGGGTCTTCTGTCCCTAAGCGT
TGTGGAACCTATTTCGCTAAAGGGTGCTCGGGAGGCTACGCCGTAACAA
CCCCATTTCTAAGGTTGACCTCGGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTT
AAGCATATCTAGNCGGNGGAAGAAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_017_140-ITS1.ab1 853 0 853 ABI
NNTTAGATATACGGAGAACTCGGCCGACCTCCACCCTTTGTATCAAAACC
TCGTTGCTCGGGGAGGCCCTGCCTCAGGGCTGGCCCCCGATGGACCAC
TAAACTCTGCATCTGTATGACGCTCTGAGTAAAGATTTTAAATTAAATCAA
AACTTTCAACAACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCG
AAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT
TGAACGCATATTGCGCCCCCTTGGTATTCCCTTGGGGCACACCTGTTTCGAGC
GTCATTTCAACCAATCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGCGATGCGGCTGCCTG
GCACGCCTCAAATGCAACGGCCGAACGTGCTCTCCTCCGGCGTCGTGGAA
ACATACCGCTATGGGGATGAGGGCGACTCGTGCCGCACAAACCTAAATTT
TCAAAGGTTGACCTCGGATCAGGTGGGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATA
TCAATAANGCGGAGGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070802-05_A19_141-ITS1.ab1 848 0 848 ABI
NNNAAAGAATACGGAGAACTCCAACCCATGTGAACCTACTGTTTCGTTCCC
TCGGCGGTGTCCGGCAACGGCCCGCCAGAGGACCCAACAAACTCTTTTGA
ATTTTTAGTATCTTCTGAGTAAAAAAAACAATAAATCAAACTTTCAAC
AACGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATA
AGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACA
TTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAA
CCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTGGGGATCGGCAAGGCGTCTCCGGGTGCG
CGCCGTCCCCCAATATAGTGCGGCTCTCGCTGTAGCTTCCTCTGCGTAG
TAATACACCTCGCTCTGGAGTCTCGGTGCGGCCACGCCGTAACCCCCCA
ACTTTTTCTGTTGACCTCGAATCAGGTAGGACTACCCGCTGAACCTTAA
GCATATCAATAAGCCGGAGGAAANNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNNN

>070723-01_J12_23-142-ITS1.ab1 835 0 835 ABI
NTTAAGAACTTAAGATTGGTGCGGGGTTCCACCAGAGCTCCACGTCCGG
TTCGCGCTCTACCCTCTTTTACGAGCACCTTTCCTTCTCCTCGGCGGGG
CAACCCGCCGACGGAACCATCCACGAACTCTTTTAAATGCATCTAAGAAG
TACTGTTCTGATAAAACCAAAATCGTTACAACCTTCAACAATGGATCTCTT
GGCTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATACGTAGTGTGAAT
TGCAGAATCCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCCCTTG
GATTCCATGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTACACCTCAAGCTCT
GCTTGGTGTGGGCGTTGTCCGCGCCTCTCGCGCGTGGACTCGCCCCAA
AGGCATTGGCAGCCCTGGCCGACGACCGCCCTCGCAGCACAAATGCGCAG
GGACCGCGGCGAGGCGCTCCAACAAGTCTCCTCTCCACGTTTGACCTC
GGATCAGGTAGGGATACCCGCTGAACCTTAAGCATATCAATAGCCGGAGGA
AANNN
NN
NN
NN
NN
NN
NN
NN

```

>070802-05_C19_43-ITS1.abl      359      0      359  ABI
NCCGCTTCCGACNCGTNTTTGTGTGGGTACCGCCCGCGATGCCCCTGAC
TCCGGTGTGACCGAATTTCAAGAATTTCCGACCTGTCTACAAAAAGAGA
AGAGGAGAATTGACCACTTACTAGGCTCTATGGGGTACCTCTTATTGCAA
TCGGAGATGTGCCGAGGCGCCATTGACGTTGACGATCTTAACTTGTGAC
GGCCTCGAAGAGGCACCAATACCTTCATAACATGAATATAATTTTAAAT
GTTCTATAAATCTGATTACACACCAAACTATTCTAATGGAAATGACGC
ATAAACTTAATTAATATATTCCTTATGTAACCTTGATACAATATTATA
TTCACCAAT

```

```

>070802-05_E19_44-ITS1.abl      825      0      825  ABI
TTTTAGCTTCGAAAAATCNCTCGGGCTGCCCCCTGAGCTTCGCGTCCGG
ATGGTGCCTCTCCCTCCTTGCCAGCAGCTTGGCCTCTTCACGCTTGTGAA
CTTGACAGACAGACCGTATCGAACTCTTTTTACGACTTCAACAACGGA
GTCTCTTAGATCTGGCATCGATGAAAATCGCAGCAAAGTGCCACTTGAAT
GTGAATTGCATAATTCACGGAATCATCTGATCTTTGAACGGTCATTGGGC
CACTTGATATTCCCAGCGGAATGCCTGTTGAGCTGTCATTCCCTTGCTA
TTCCATGGGGTATGCGTGTTGAGCGTCATTTACACCCTCAAGCTCTGCT
TGGTGTGGGCCTTTGTTCTGGCGCTCGTAGAGTGGAAACGCTTCAGAC
TCTTCGTGTGCCCTGGGCGACCACCACCCATATTTCACTTTCGCATGG
ACAAGCGGGCGAGATGCATCCGATAACTCTCCTCTCTACGTAGGACCACA
GAGCAGGGAAGTATTCCCGATTAACTTAATTATATCGAGAAACGAATGAA
ATCTCCGTCTAAAGTGACTTCGTTGTAGACTTTAACAACAACTTCTAG
TTACCCTATGTATCGCCATCGCTAGAATAAGTATCTAATGGTCCTAGTAG
TAATGAATCTATTAACCTTGAAACAAATTATCTAGATTCCGACTATTTAA
GCCAACAGCATTTTCGCATAACCAAGAGTTATAATTATTACATCCACTC
CAACAATTGGTAAATTACAAAAAAAGGATAGGAGAATACCACCAATA
CAAGCAGGTCGAGGAGAAGTAAATG

```

Annexe 6 : Evaluation du pp de l'eau au cours des semaines

S13

Jour de lecture : 13	A			B			C			D		
Mesures	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.
Témoin inoculé avec de l'eau stérile	10	3	30	8	4	32	8	12	96	10	2	20
Témoin <i>C. musae</i>	12	15	180	19	18	342	18	15	270	15	14	210
Dia-dia Eau par dépôt	6	10	60	7	8	56	10	12	120	6	14	84
Dia-dia Eau concentrée par dépôt	5	20	100	8	13	104	7	14	98	7	20	140
Tiko Eau par dépôt	7	7	49	12	17	204	7	13	91	7	21	147
Tiko Eau concentrée par dépôt	7	15	105	7	15	105	7	15	105	10	12	120

Traitement	Surface A	Surface B	Surface C	Surface D	Surface moyenne
T1	30	32	96	20	44,5
T2	180	342	270	210	250,5
T3	60	56	120	84	80
T4	100	104	98	140	110,5
T5	49	204	91	147	122,75
T6	105	105	105	120	108,75

S14

Jour de lecture : 13	A			B			C			D		
Mesures	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.
Témoin inoculé avec de l'eau stérile	5	3	15	8	18	144	5	12	60	8	16	128
Témoin <i>C. musae</i>	18	19	342	17	22	374	18	20	360	17	18	306
Dia-dia Eau par dépôt	5	13	65	10	18	180	7	18	126	14	19	266
Dia-dia Eau concentrée par dépôt	10	18	180	10	18	180	10	21	210	10	20	200
Tiko Eau par dépôt	7	12	84	10	14	140	8	11	88	7	13	91
Tiko Eau concentrée par dépôt	7	8	56	11	14	154	10	13	130	9	16	144

Traitement	Surface A	Surface B	Surface C	Surface D	Surface moyenne
T1	15	144	60	128	86,75
T2	342	374	360	306	345,5
T3	65	180	126	266	159,25
T4	180	180	210	200	192,5
T5	84	140	88	91	100,75
T6	56	154	130	144	121

S15

Jour de lecture : 13	A			B			C			D		
Mesures	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.
Témoin inoculé avec de l'eau stérile	8	4	32	2	6	12	3	6	18	8	5	40
Témoin <i>C. musae</i>	16	24	384	17	22	374	16	21	336	17	16	272
Dia-dia Eau par dépôt	7	14	98	8	10	80	7	10	70	8	15	120
Dia-dia Eau concentrée par dépôt	0	0	0	9	17	153	9	16	144	10	20	200
Tiko Eau par dépôt	7	13	91	9	15	135	9	11	99	6	9	54
Tiko Eau concentrée par dépôt	5	12	60	7	8	56	9	7	63	6	8	48

Traitement	Surface A	Surface B	Surface C	Surface D	Surface moyenne
T1	32	12	18	40	25,5
T2	384	374	336	272	341,5
T3	98	80	70	120	92
T4	0	153	144	200	124,25
T5	91	135	99	54	94,75
T6	60	56	63	48	56,75

S16

Jour de lecture : 13	A			B			C			D		
Mesures	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.
Témoin inoculé avec de l'eau stérile	10	15	150	5	12	60	5	11	55	9	12	108
Témoin <i>C. musae</i>	17	19	323	17	18	306	17	18	306	20	19	380
Dia-dia Eau par dépôt	9	14	126	5	12	60	5	12	60	9	14	126
Dia-dia Eau concentrée par dépôt	10	14	140	8	16	128	8	14	112	10	21	210
Tiko Eau par dépôt	7	13	91	5	13	65	3	5	15	8	25	200
Tiko Eau concentrée par dépôt	9	7	63	6	11	66	6	10	60	9	25	225

Traitement	Surface A	Surface B	Surface C	Surface D	Surface moyenne
T1	150	60	55	108	93,25
T2	323	306	306	380	328,75
T3	126	60	60	126	93
T4	140	128	112	210	147,5
T5	91	65	15	200	92,75
T6	63	66	60	225	103,5

Évaluation du Pouvoir Pathogène (EPP) des eaux de dépaillage

Semaines	S13	S14	S15	S16	S moy
Eau stérile	44,5	86,75	25,5	93,25	62,5
C. musae	250,5	345,5	341,5	328,75	316,56
Eau Dia-dia	80	159,25	92	93	106,06
Eau Tiko	110,5	192,5	124,3	147,5	143,69
Eau conc. Dia-dia	122,75	100,75	94,75	92,75	102,75
Eau conc. Tiko	108,75	121	56,75	103,5	97,5

Evaluation du Pouvoir Pathogène moyen des eaux de dépaillage

Traitement	Eau stérile	C. musae	Eau Dia-dia	Eau Tiko	Eau conc. Dia-dia	Eau conc. Tiko
S moy	62,5	316,56	106,06	143,69	102,75	97,5

ANOVA : SN en fonction de Traitement; Semaine

Facteur Type Niveaux Valeurs

Traitement fixe 6 Cm Eau EcD EcT ED ET
Semaine aléatoire 4 13 14 15 16

Analyse de la variance pour SN

Source	DL	SC	CM	F	P
Traitement	5	166080	33216	45,42	0,000
Semaine	3	8924	2975	4,07	0,027
Erreur	15	10969	731		
Total	23	185973			

Annexe 7 : Pouvoir Pathogène des espèces isolées fréquemment des eaux de lavage

N° Type	1 Témoïn <i>C.m.</i>			2 <i>F.m.</i>			3 <i>F. ?</i>			4 <i>Verticillium</i>			5 <i>Céphalosporium</i>			6 <i>Cladosporium</i>			7 <i>Paecilomycès</i>			8 <i>Pénicillium</i>		
Mesure	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.	Long.	Larg.	Surf.
1	19	18	342	10	12	120	22	10	220	12	13	156	6	9	54	10	14	140	7	19	133	9	20	180
2	18	20	360	12	15	180	15	19	285	17	20	340	10	18	180	8	16	128	8	11	88	8	15	120
3	17	20	340	14	8	112	8	17	136	10	10	100	5	17	85	9	17	153	5	13	65	7	7	49
4	19	18	342	10	15	150	13	5	65	5	9	45	7	13	91	7	13	91	8	11	88	9	16	144
5	19	21	399	10	14	140	9	13	117	17	11	187	8	12	96	16	22	352	10	17	170	12	14	168
6	17	17	289	10	10	100	12	8	96	8	10	80	8	7	56	8	17	136	5	9	45	8	15	120
7	18	20	360	15	16	240	17	11	187	12	10	120	10	10	100	16	13	208	9	14	126	10	13	130
8	18	19	342	10	16	160	7	18	126	9	10	90	15	13	195	11	19	209	8	13	104	14	9	126
9	21	17	357	7	10	70	7	3	21	3	2	6	8	2	16	0	0	0	5	2	10	14	17	238
10	18	18	324	11	17	187	8	12	96	8	12	96	8	12	96	10	17	170	6	9	54	7	7	49
11	16	17	272	14	13	182	16	18	288	14	17	238	8	14	112	8	14	112	6	9	54	12	17	204
12	21	15	315	12	11	132	17	16	272	12	10	120	10	11	110	11	18	198	7	9	63	9	9	81
13	20	18	360	13	19	247	13	15	195	13	11	143	7	12	84	11	20	220	4	20	80	8	16	128
14	17	16	272	11	13	143	14	13	182	13	12	156	6	10	60	13	13	169	6	6	36	8	16	128
15	18	18	324	13	6	78	12	14	168	9	9	81	9	17	153	9	9	81	6	6	36	8	11	88
Moyenne			333			149,4			163,6			131			99,2			158			76,8			130,2

ANOVA : S.n. en fonction de Traitement; Mesure

Facteur	Type	Niveaux	Valeurs							
Traitement aléatoire		8	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	
			T8							
Mesure	fixe	15	1	2	3	4	5	6	7	
		8	9	10	11	12	13	14		
				15						

Analyse de la variance pour S.n.

Source	DL	SC	CM	F	P
Traitement	7	634663	90666	30,99	0,000
Mesure	14	134488	9606	3,28	0,000
Erreur	98	286727	2926		
Total	119	1055878			